



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS, RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE

CARRERA DE AGROINDUSTRIAS

TEMA:

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO DE LA CORTEZA DE NARANJA VARIEDAD VALENCIANA (*Citrus sinensis*) Y NARANJA AGRIA (*Citrus aurantium*)

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingenieros Agroindustriales, Otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Agroindustrias.

AUTORES:

Sthefany Simonne Gaibor Cruz

Brayan Stalyn Flores Ortiz

TUTOR:

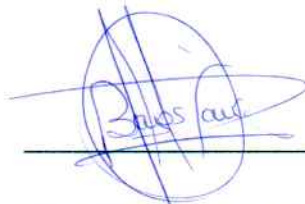
Ing. Favián Bayas Morejón PhD

GUARANDA – ECUADOR

2025

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y
ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO DE LA CORTEZA
DE NARANJA VARIEDAD VALENCIANA (*Citrus sinensis*) Y NARANJA
AGRIA (*Citrus aurantium*)

REVISADO Y APROBADO POR:



Ing. Favián Bayas Morejón PhD

TUTOR



Ing. Darwin Núñez MsC.

PAR LECTOR



Ing. Franz Verdezoto MsC.

PAR LECTOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Nosotros, **Sthefany Simonne Gaibor Cruz**, con CI 0202416566, y **Brayan Stalyn Flores Ortiz**, con CI 0605262658, declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.



Sthefany Simonne Gaibor Cruz

C.I: 0202416566



Brayan Stalyn Flores Ortiz

C.I: 0605262658



Ing. Favián Bayas Morejón PhD

C.I: 0201811916

TUTOR



ESCRITURA N° 20250201004P00324

DECLARACIÓN JURAMENTADA

OTORGAN:

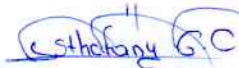
**BRAYAN STALYN FLORES ORTIZ Y
STHEFANY SIMONNE GAIBOR CRUZ**

CUANTÍA: INDETERMINADA

Di 2 COPIAS

En el Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy lunes a los quince días del mes de abril del año dos mil veinticinco, ante mí **DOCTORA MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRIÓN, NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA** comparecen con plena capacidad, libertad y conocimiento, a la celebración de la presente escritura los señores, **BRAYAN STALYN FLORES ORTIZ**, de estado civil casado; y, **STHEFANY SIMONNE GAIBOR CRUZ**, de estado civil divorciada, por sus propios y personales derechos en calidad de OTORGANTES. Los comparecientes declaran ser de nacionalidad ecuatorianos, mayores de edad, de estado civil como se deja expresado, de ocupación ambos estudiantes, domiciliado el primero en la parroquia Cebadas, Cantón Camote, Provincia Chimborazo y de paso por este Canton Guaranda, provincia Bolívar, con teléfono celular número cero nueve nueve siete nueve cuatro cuatro uno nueve; y, con correo electrónico brflores@mailes.ueb.edu.ec; y, la segunda en la parroquia Central, Cantón Chimbo y de paso por este Canton Guaranda, Provincia Bolívar, con teléfono celular número cero nueve seis cero seis seis cuatro cinco seis siete cuatro; y, con correo electrónico sthgaibor@mailes.ueb.edu.ec, hábiles en derecho para contratar y contraer obligaciones, a quienes de conocer doy fe, en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificaciones, en base lo cual obtengo las certificaciones biométricas del Registro Civil, además por petición expresa de los comparecientes adjunto sus documentos personales como son las cédulas y los certificados de votaciones, como habilitantes a esta escritura. Advertidos los comparecientes por mí la Notaria de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinados que fueron en forma aislada y separada de que comparecen al otorgamiento de esta escritura sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción instruidos por mí de la obligación que tienen de decir la verdad con claridad y exactitud; y, advertidos sobre la gravedad del juramento y de las penas de perjurio, me solicitan que recepte su declaración juramentada: Nosotros: **BRAYAN STALYN FLORES ORTIZ**, de estado civil casado; y, **STHEFANY SIMONNE GAIBOR CRUZ**, de estado civil divorciada, declaramos que los criterios e ideas emitidos en el presente Proyecto de investigación de titulación es de nuestra absoluta autoría, titulado "**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL OBTENIDO DE LA CORTEZA DE NARANJA VARIEDAD VALENCIANA (Citrus sinensis) Y NARANJA AGRIA (Citrus aurantium)**". previo a la obtención del título de Ingenieros Agroindustriales, otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, carrera de Agroindustria.- Es todo cuanto podemos declarar en honor a la verdad.- Para su otorgamiento se observaron los preceptos de ley y leída que les fue a los comparecientes íntegramente por mí la Notaria, aquellos se afirman y ratifican en todas sus partes y firman junto conmigo en unidad de acto, incorporando al protocolo de esta Notaria la presente escritura de Declaración Juramentada, de todo cuanto doy Fe.-----


SR. BRAYAN STALYN FLORES ORTIZ.
C.C. 0605262658


SRA. STHEFANY SIMONNE GAIBOR CRUZ.
C.C. 0202416566





DOCTORA MSc. GINA LUCIA CLAVIJO CARRION
NOTARIA CUARTA DEL CANTÓN GUARANDA.



Flores _ Gaibor

18-2-2025_Flores_Gaibor.docx



-  My Files
-  My Files
-  Universidad Estatal de Bolivar

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117:445039158

Fecha de entrega

2 abr 2025, 5:50 a.m. GMT-5

Fecha de descarga

2 abr 2025, 5:54 a.m. GMT-5

Nombre de archivo

18-2-2025_Flores_Gaibor.docx

Tamaño de archivo

514.0 KB

41 Páginas

10.254 Palabras

54.592 Caracteres

3% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.




Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text
- Cited Text
- Small Matches (less than 10 words)



ISIDRO FAVIAN BAYAS
MOREJON

Top Sources

- 3%  Internet sources
- 1%  Publications
- 2%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.



Ing. Favián Bayas Morejón PhD
TUTOR

DEDICATORIA

A mi valiente mamá que esta en el cielo esta tesis es el resultado de su esfuerzo, apoyo y sacrificio en mi viaje educativo sus palabras de aliento, su perseverancia y tu ejemplo constante han sido mi inspiración. Cada día que trabajaste incansablemente y cada vez que me brindaste tu cariño son cosas que valoro profundamente que marcara por el resto de mi vida. Esta tesis es un tributo a ti, mi fuente inagotable de fortaleza y amor en mi búsqueda de conocimiento. A través de tus enseñanzas y cariño, has dejado una huella imborrable en mi vida, y mi éxito académico es un reflejo de tu inquebrantable dedicación. Te amo con todo mi corazón y esta tesis es mi modesta forma de agradecerte por todo lo que has hecho por mí.

Brayan Stalyn Flores Ortiz

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, por brindarme la vida, la inteligencia y la sabiduría para llevar a cabo este proyecto. A mis padres y hermanos, cuyo amor y apoyo incondicional siempre me han acompañado. De manera especial, a mi hijo, quien ha sido mi principal fuente de inspiración y motivación para alcanzar todo lo que me propuse. Su amor, sacrificio y paciencia han sido fundamentales en cada paso de este camino.

Agradezco profundamente a todos aquellos que han sido parte de mi vida, quienes con sus valiosas enseñanzas me han guiado para tomar las mejores decisiones. Esta tesis es el reflejo de su confianza en mí y de mi eterna gratitud hacia ustedes.

Sthefany Simonne Gaibor Cruz

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios y a toda mi familia sobre todo a mi hermana Jenny a mi compañera de vida Janeth y a mi pequeña hija Nina por apoyarme a pesar de las adversidades, a mis docentes que me han compartido sus experiencias y su conocimientos durante estos 5 años para ser un excelente profesional gracias a todas esas personas que confiaron en mi desde el día uno que comencé este viaje académico.

Agradecerles a todos mis compañeros los cuales muchos de ellos se han convertido en mis amigos cómplices y hermanos. Gracias por las horas compartidas, los trabajos realizados en conjunto y las historias vividas.

Agradecerles a Olga y José que me han brindado su apoyo incondicional para cumplir mis objetivos y salir adelante también son los que me han brindado soporte material y económico.

Brayan Stalyn Flores Ortiz

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento CIMABIF: Centro de Investigación en Microbiología Aplicada, Biotecnología y Fotoquímica, a todas las personas que han sido parte de este proceso. En primer lugar, agradezco profundamente a mi director de tesis, Ing. Fabian Bayas Morejón, por su orientación, apoyo y paciencia a lo largo de todo el proyecto.

Sus valiosas enseñanzas y su dedicación fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo.

A mi Madre por su amor incondicional por estar siempre a mi lado, por motivarme a seguir adelante, incluso en los momentos más difíciles .su confianza y apoyo fueron la base de todo lo que he logrado.

A mis amigos ya que con su comprensión y ánimo tanto en los momentos de éxito como los de dificultad. Su apoyo emocional fue esencial para completar esta etapa.

A todos los docentes profesionales que, de alguna forma, contribuyeron con sus conocimientos y experiencias a mi formación y desarrolló académico.

Y a todas aquellas personas que, con su ejemplo y sus palabras, me, han inspirado a continuar aprendiendo ya nunca rendirme. gracia a todos por su apoyo y por ser parte de este logro.

Sthefany Simonne Gaibor Cruz

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	Pag.
CAPITULO I	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA	2
1.2.1. Planteamiento del problema	2
1.2.2. Formulación del problema	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. Objetivo general	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. HIPÓTESIS	5
1.4.1. Hipótesis Nula (H_0)	5
1.4.2. Hipótesis Alterna (H_a)	5
CAPITULO II	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. Naranja valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	6
2.2. Generalidades de la naranja	6
2.2.1. Taxonomía de la naranja	7
2.2.2. Características de la naranja	7
2.2.3. Valor nutricional de la naranja	8
2.3. Naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)	9
2.4. Producción de la naranja	9
2.4.1. Producción mundial de la naranja	9
2.4.2. Producción de naranja en Ecuador	10

2.4.3.	Producción de naranja en la provincia Bolívar	11
2.5.	Aprovechamiento de los residuos biomasicos	11
2.5.1.	Cáscara de la naranja	11
2.5.2.	Composición química de la cáscara de la naranja	12
2.5.3.	Beneficios de la cáscara de naranja	12
2.5.4.	Parámetros de selección de la cáscara de naranja	12
2.5.5.	Industrialización de los residuos biomasicos de la naranja	13
2.6.	Método de extracción	13
2.6.1.	Proceso de arrastre de vapor	13
2.7.	Maceración	13
2.7.1.	Proceso de maceración	14
2.8.	Aceites esenciales	14
2.8.1.	Clasificación de los aceites esenciales	15
2.8.2.	Propiedades físicas-químicas de los aceites esenciales	16
2.9.	Actividad antioxidante del aceite de naranja	16
2.9.1.	Beneficio de los antioxidantes	16
2.9.2.	Método ABTS	17
2.9.3.	Método FRAP	17
2.9.4.	Radicales libres	17
2.9.5.	Estrés oxidativo	18
2.10.	Actividad antimicrobiana	18
2.10.1.	<i>Escherichia coli</i>	18
2.10.2.	<i>Shigella</i>	19
2.10.3.	<i>Staphylococcus aureus</i>	20

2.10.4.	<i>Bacillus</i>	20
2.10.5.	Reanimación de cepas bacterianas	21
2.11.	Medios de cultivo	21
2.11.1.	Agar Salmonella-Shigella	21
2.11.2.	Agar MacConkey	22
2.11.3.	Agar Manitol Salado	22
2.11.4.	Agar Chromogenic <i>Bacillus</i>	23
2.12.	Antibiogramas	23
2.12.1.	Técnica E-test	23
2.12.2.	Difusión en disco (Kirby-Bauer)	24
2.12.3.	Concentración mínima inhibitoria (CMI)	24
CAPITULO III		25
3.	MARCO METODOLÓGICO	25
3.1.	Ubicación de la investigación	25
3.1.1.	Localización de la investigación	25
3.1.2.	Situación geográfica y edafoclimática	25
3.1.3.	Zona de vida	26
3.2.	Metodología	26
3.2.1.	Material en estudio	26
3.2.2.	Factores de estudio	26
3.2.3.	Tratamientos	27
3.2.4.	Tipo de diseño experimental	28
3.2.5.	Descripción técnica del ensayo	30
3.2.6.	Manejo de la investigación	31

CAPITULO IV	38
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4.1. Interpretación de resultados	38
4.1.1. Extracción del aceite de la corteza de la naranja por arrastre de vapor.	38
4.1.2. Capacidad antioxidante del aceite esencial de naranja por el método ABTS Y FRAP	40
4.1.3. Efecto antimicrobiano del aceite en cepas de <i>E. coli</i> , <i>Shigella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Bacillus</i> mediante difusión disco placa.	46
4.1.4. Concentración mínima inhibitoria del mejor tratamiento mediante E- test	54
4.2. COMPROBACIÓN DE LAS HIPÓTESIS	57
CAPITULO V	59
5.1. CONCLUSIONES	59
5.2. RECOMENDACIONES	60
BIBLIOGRAFÍA	61
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Nº	Detalle	Pag.
1	Taxonomía del naranjo de variedad Valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	7
2	Valor nutricional promedio por cada 100 gramos de naranja valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	8
3	Tipos de plantas que se extraen aceites esenciales	15
4	Localización de la investigación	25
5	Aspectos generales del territorio	26
6	Factores de estudio para el efecto antimicrobiano	27
7	Factores considerados para el efecto antioxidante	27
8	Combinación para el efecto antimicrobiano	28
9	Combinación para el efecto antioxidante	28
10	Análisis de varianza (ANOVA) para el diseño en arreglo factorial AxB	29
11	Características del experimento para efecto antimicrobiano	30
12	Características del experimento efecto antioxidante	31
13	Tratamientos de la capacidad antioxidante de la naranja valenciana y agria	40
14	ANOVA AxB para capacidad antioxidante	41
15	Método: 95,0 porcentaje LSD (Capacidad antioxidante por Variedad de Naranja)	41
16	Método: 95,0 porcentaje LSD (Capacidad antioxidante por Efecto Antioxidante)	42
17	Capacidad antioxidante de la naranja valenciana y agria evaluada por el método FRAP y ABTS	44
18	Tratamientos del efecto antimicrobiano de la naranja valenciana y agria	46

19	ANOVA AxB para efecto antimicrobiano	47
20	Método: 95,0 porcentaje LSD (Tamaño del halo por Variedad de Naranja)	47
21	Método: 95,0 porcentaje LSD (Tamaño del halo por Efecto Antimicrobiano)	48
22	Actividad antimicrobiana del aceite esencial de la naranja valenciana (<i>Citrus sinensis</i>) y naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)	50
23	Halos de inhibición obtenidos para distintos microorganismos utilizando aceite esencial de naranja.	52
24	Concentración mínima inhibitoria del mejor tratamiento mediante E- test	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Nº	Detalle	Pag.
1	Naranja Valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	6
2	Naranjo de variedad Valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	8
3	Naranja Agria	9
4	Producción anual de naranjas a nivel mundial 2011 - 2022	10
5	Cáscara de naranja	11
6	Proceso de maceración	14
7	Radicales libres	18
8	Diagrama de flujo de la extracción del aceite de la cáscara de naranja	33
9	Etapas del enfoque ingenieril para la extracción de aceite esencial	34
10	Obtención del aceite esencial a partir de la cáscara de naranja	39
11	Gráfica de interacciones y medias para variedad de naranja	42
12	Gráfica de interacciones y medias para efecto antioxidante	43
13	Gráfica de interacciones y medias para variedad de naranja por tamaño del halo	48
14	Gráfica de interacciones y medias para efecto antimicrobiano	49
15	Siembra de la bacteria <i>Shigella</i> spp. con discos impregnados de aceites esenciales de diferentes variedades de naranja	51
16	Barras agrupadas de Halo de inhibición por Bacteria por Concentración	55
17	Siembra en placa método E-test	56

ÍNDICE DE ANEXOS

Nº	Detalle
1	Mapa de ubicación de la investigación
2	Cronograma de actividades
3	Presupuesto de anteproyecto
4	Recolección de las materias Primas
5	Informes de resultados
6	Fotografías de la investigación
7	Glosario de términos técnicos

RESUMEN

Los residuos de cáscara de naranja generan problemas ambientales y económicos debido a su descomposición anaeróbica que produce gases de efecto invernadero y la pérdida de residuos aprovechables, en consecuencia, la investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial obtenido de la corteza de naranja valenciana (*Citrus sinensis*) y agria (*Citrus aurantium*). Se empleó un diseño experimental A×B (2×4) para evaluar el efecto antimicrobiano frente a *E. coli*, *Shigella spp.*, *S. aureus* y *Bacillus cereus*, considerando el tamaño del halo como variable respuesta; para la actividad antioxidante, se utilizó un diseño AXB (2×2), donde los factores fueron: variedad de naranja y los métodos ABTS y FRAP. Los resultados mostraron que el aceite obtenido mediante arrastre de vapor tuvo un rendimiento del 1,25% en ambas variedades. Los análisis antioxidantes expusieron que la naranja valenciana presentó una capacidad significativamente mayor que la naranja agria, con valores de 438,08 $\mu\text{molET/L}$ (ABTS) y 187,21 $\mu\text{molET/L}$ (FRAP); asimismo, el método ABTS resultó ser más sensible para detectar antioxidantes. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de naranja agria reveló inhibición significativa contra todas las bacterias evaluadas, con halos de 30 mm, mientras que la variedad valenciana no presentó actividad. La concentración mínima inhibitoria evaluada mediante E-test, determinó que la amoxicilina tiene mayor efectividad antimicrobiana en comparación con la ceftriaxona, especialmente contra *E. coli* y *Shigella spp.*, donde alcanzó halos de inhibición de 35 mm con concentraciones de 10 μg ; en *Bacillus spp.*, la amoxicilina mostró un halo de 30 mm a 10 μg , mientras que la ceftriaxona alcanzó 25 mm a la misma concentración, finalmente, para *S. aureus*, ambos antibióticos presentaron una efectividad similar, con halos de 35 mm a 10 μg . Se concluye que este estudio contribuye al desarrollo de aplicaciones del aceite esencial en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética, promoviendo el aprovechamiento de residuos agroindustriales y reduciendo su impacto ambiental.

Palabras clave: Naranja valenciana, naranja agria, ABTS, FRAP, E-test, CMI, actividad antioxidante, actividad antimicrobiana

SUMMARY

Orange peel waste generates environmental and economic issues due to its anaerobic decomposition, which produces greenhouse gases and leads to the loss of valuable resources. Consequently, this research aimed to determine the antioxidant and antimicrobial activity of essential oil obtained from the peel of Valencia orange (*Citrus sinensis*) and sour orange (*Citrus aurantium*). An A×B (2×4) experimental design was employed to evaluate the antimicrobial effect against *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus*, and *Bacillus cereus*, considering inhibition halo size as the response variable. For antioxidant activity, an A×B (2×2) design was used, with orange variety and the ABTS and FRAP methods as factors. Results showed that steam distillation yielded 1.25% oil for both varieties. Antioxidant analysis revealed that Valencia orange exhibited significantly higher capacity than sour orange, with values of 438.08 µmol ET/L (ABTS) and 187.21 µmol ET/L (FRAP), and that the ABTS method was more sensitive in detecting antioxidants. The antimicrobial activity of sour orange essential oil demonstrated significant inhibition against all tested bacteria, with halos reaching 30 mm, whereas the Valencia variety showed no activity. The minimum inhibitory concentration, evaluated using the E-test, determined that amoxicillin had higher antimicrobial effectiveness compared to ceftriaxone, particularly against *E. coli* and *Shigella spp.*, with inhibition halos of 35 mm at 10 µg. Against *Bacillus spp.*, amoxicillin achieved a 30 mm halo at 10 µg, while ceftriaxone reached 25 mm at the same concentration. Finally, for *S. aureus*, both antibiotics exhibited similar effectiveness, with inhibition halos of 35 mm at 10 µg. This study contributes to the development of essential oil applications in the food, pharmaceutical, and cosmetic industries, promoting the utilization of agro-industrial waste and reducing its environmental impact.

Keywords: Valencia orange, sour orange, ABTS, FRAP, E-test, MIC, antioxidant activity, antimicrobial activity

CAPITULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

Los desechos de cáscara de naranja causan problemas ambientales, económicos y sociales, como la liberación de gases que contribuyen al efecto invernadero, pérdida de recursos valiosos y atractivo de plagas (Bhatia et al., 2023). La naranja valenciana (*Citrus sinensis*) es una fruta muy conocida por su delicioso sabor y valor nutricional. En la ciudad de Caluma, ubicada en la provincia de Bolívar, Ecuador, cuenta con aproximadamente 1300 hectáreas de naranja siendo más del 60% de la población que se dedica a este cultivo (Segovia et al., 2022). Las naranjas agrias han sido muy valoradas por sus propiedades nutricionales y medicinales durante siglos, en la antigua China, se utilizaban para tratar los nervios en casos de insomnio (Stampella, 2021).

La elección de estas variedades de naranjas como tema de investigación se debe a su relevancia tanto a nivel local como global. Caluma con su clima favorable y sus tierras fértiles proporciona un entorno ideal para el cultivo de esta fruta, cuyo aceite esencial ha demostrado tener una composición química única. Sin embargo, a pesar de su potencial, aún no se conocen bien los aspectos de sus efectos antioxidantes, antimicrobianos frente a cuatro cepas de bacterias y la concentración inhibitoria mediante E-test, lo que motiva desarrollar este estudio por lo que se aplicara métodos para determinar el efecto antimicrobiano y el efecto antioxidante del aceite de la naranja.

Escherichia coli y *Shigella spp.* son patógenos comunes transmitidos por los alimentos responsables de los brotes de enfermedades, mientras que *Staphylococcus aureus* y *Bacillus spp.*, son responsables de infecciones de la piel, heridas y enfermedades respiratorias (Sánchez, 2024). La capacidad del aceite esencial de naranja de variedad valencia para inhibir el crecimiento de estas cepas bacterianas podría ser relevante para evitar enfermedades infecciosas, así como en la preservación de alimentos (Morales, 2021).

Debido a los múltiples beneficios que posee, se vio la necesidad de realizar estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial obtenido de la corteza de naranja valenciana (*Citrus sinensis*) y naranja agria (*Citrus aurantium*).

1.2. PROBLEMA

1.2.1. Planteamiento del problema

Los residuos de la naranja radican en su aprovechamiento, si bien tienen un gran potencial para producir diferentes subproductos, el manejo ineficiente puede resultar en impactos negativos como la contaminación de las fuentes de agua y suelo (Grasso & Díaz-Zorita, 2020).

Alrededor del 50% del peso de naranja son los desechos, la piel de alrededor del 30-40%, si estos desechos se almacenan en un vertedero, pueden pudrirse anaeróbicamente y producir metano, gases de efecto invernadero con un calentamiento global potencial 25 veces mayor que el CO₂, el uso de una corteza de naranja para obtener aceites esenciales puede reducir significativamente esta emisión evitando la descomposición anaeróbica, convirtiendo los residuos en productos útiles y reduciendo las trazas de carbono relacionadas (Granda, 2021).

El aceite extraído de la corteza de naranja es un subproducto valioso con una extensa línea de aplicaciones en la industria y el comercio, contiene compuestos como limoneno, terpenos y antioxidantes que lo hacen útil para elaborar productos de limpieza, saborizantes, cosméticos y productos farmacéuticos (Gamarra, 2022). Franco & Acuña (2023), menciona que también es conocido por sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas, estas propiedades se atribuyen a la existencia de compuestos bioactivos, tales como flavonoides y terpenos, que poseen la competencia de neutralizar los radicales libres responsables del estrés oxidativo, así como de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. Por lo expuesto, se decidió realizar el presente estudio para determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial extraído de la corteza de naranja variedad valenciana (*Citrus sinensis*) y naranja agria (*Citrus aurantium*).

1.2.2. Formulación del problema

Según lo expuesto, se considera que la presente investigación debe abordar el estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial obtenido de la corteza de naranja valenciana (*Citrus sinensis*) y de la naranja agria (*Citrus aurantium*), a lo que surge la siguiente pregunta:

¿Cómo determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial obtenido de la corteza de naranja variedad valenciana (*Citrus sinensis*) y naranja agria (*Citrus aurantium*)?.

1.3.OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial obtenido de la corteza de naranja variedad valenciana (*Citrus sinensis*) y naranja agria (*Citrus aurantium*).

1.3.2. Objetivos específicos

- Extraer el aceite de la corteza de la naranja por arrastre de vapor.
- Estudiar la capacidad antioxidante del aceite obtenido por el método ABTS Y FRAP.
- Determinar el efecto antimicrobiano del aceite en cuatro cepas de bacterias (*E. coli*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus*) mediante difusión disco placa.
- Evaluar la concentración mínima inhibitoria del mejor tratamiento mediante E-test.

1.4. HIPÓTESIS

1.4.1. Hipótesis Nula (H_0)

El aceite esencial obtenido de la corteza de naranja variedad valenciana (*Citrus sinensis*) y naranja agria (*Citrus aurantium*) no influye en la actividad antioxidante y antimicrobiana.

$$H_0 = T1 = T2 = T3 = T4 = \dots = Tn$$

1.4.2. Hipótesis Alterna (H_a)

El aceite esencial obtenido de la corteza de naranja variedad valenciana (*Citrus sinensis*) y naranja agria (*Citrus aurantium*) influye en la actividad antioxidante y antimicrobiana.

$$H_a \neq T1 \neq T2 \neq T3 \neq T4 \neq \dots Tn$$

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Naranja valenciana (*Citrus sinensis*)

Es una variedad de naranja dulce muy apreciada en el mercado internacional y ocupa el segundo lugar en importancia dentro del grupo de naranjas blancas, después de la Valencia Late; su origen se atribuye a una mutación espontánea de yema en un árbol de la variedad Comuna en la provincia de Valencia, España (Entonado, 2022). Es importante mencionar que esta variedad es una de las más cultivadas y reconocidas a nivel mundial, desempeñando un papel fundamental en la economía de numerosos países debido a su amplio uso en la industria de los cítricos (Tardío et al., 2022).

Figura 1

Naranja Valenciana (Citrus sinensis)



Nota. El color puede variar por tipo de clima donde se la está cultivando. Tomado de la investigación de (Tardío et al., 2022).

2.2. Generalidades de la naranja

Es una especie subtropical que muestra cierta resistencia al frío; sin embargo, tanto las flores como los frutos son vulnerables a estas condiciones climáticas; para garantizar una adecuada maduración de los frutos, requiere temperaturas cálidas durante el verano (Pilco, 2020).

2.2.1. Taxonomía de la naranja

La naranja valenciana, científicamente conocida como *Citrus sinensis* pertenece a la siguiente taxonomía.

Tabla 1

Taxonomía del naranjo de variedad Valenciana (Citrus sinensis)

Taxonomía y morfología de la naranja Valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase	<i>Rosidae</i>
Orden	<i>Sapindae</i>
Familia	<i>Rutaceae</i>
Género	<i>Citrus</i>
Especie	<i>Citrus sinensis</i>

Nota. Tomado y modificado del artículo de (Pilco, 2020).

Esta variedad de naranja dulce surgió a partir de una mutación espontánea en las yemas de un naranjo de la variedad Comuna, originada en la provincia de Valencia, España, es la que más demanda presenta por las industrias dedicadas a la producción de zumos (Tardío et al., 2022).

2.2.2. Características de la naranja

El naranjo es un árbol frutal alto que generalmente mide entre 3 y 5 metros, aunque puede llegar a los 13 metros de alto, robusto y de copa ancha, sus hojas son de color verde oscuro, ovaladas y con bordes dentados, las flores son blancas con el centro amarillo y tienen un aroma intenso, los frutos son redondos de color anaranjado y de piel fina, en el interior de la fruta está lleno de gajos jugosos (Alfonso et al., 2023). El fruto es ligeramente ácido y tiene un pH entre 2,5 - 3, dependiendo de su madurez, tamaño, debido a su nivel de azúcar simple, la acidez no es tan sobresaliente (Moya, 2021).

Figura 2

Naranjo de variedad Valenciana (Citrus sinensis)



Nota. Tomado de (Moya, 2021).

2.2.3. Valor nutricional de la naranja

La naranja valenciana es una excelente fuente de nutrientes esenciales para la salud:

Tabla 2

Valor nutricional promedio por cada 100 gramos de naranja valenciana (Citrus sinensis)

100g de naranja contiene	
Calorías	43kcal
Carbohidratos	9g
Fibra	2,4g
Azúcares	8,2g
Proteínas	0,9g
Grasas	0,2g
Vitamina C	53mg 60,70% ingesta diaria
Vitamina A	225 UI
Potasio	181mg
Calcio	40 mg
Hierro	0,1mg

Nota. Tomado y modificado de (Suarez, 2023).

Además de estos nutrientes contienen una diversidad de antioxidantes, como los flavonoides, que logran ofrecer beneficios para el bienestar del organismo.

2.3.Naranja agria (*Citrus aurantium*)

El naranjo amargo, un árbol cítrico de la familia Rutáceas, es un híbrido entre *Citrus maxima* y *Citrus reticulata*; se trata de un árbol perenne que logra una altura entre 7 y 8 m, con espinas axilares puntiagudas; sus hojas son de forma elíptica, de dimensiones de 50-115 x 30-55 mm, presentan un color verde oscuro brillante, son fragantes y cuentan con pecíolos alados con alas obovadas. Las flores, son bisexuales, aparecen en cimas axilares, son blancas, extremadamente aromáticas, con pétalos carnosos y glandulares. El fruto es esférico, de 7 x 7,5 cm, con una base y una punta ligeramente aplanadas; su cáscara madura es rugosa y glandular, mientras que la pulpa tiene un sabor agridulce (Hernández-Amasifuen et al., 2021).

Figura 3

Naranja Agria



Nota. Este tipo de naranja se caracteriza por tener abundantes semillas. Fuente (Suarez, 2023).

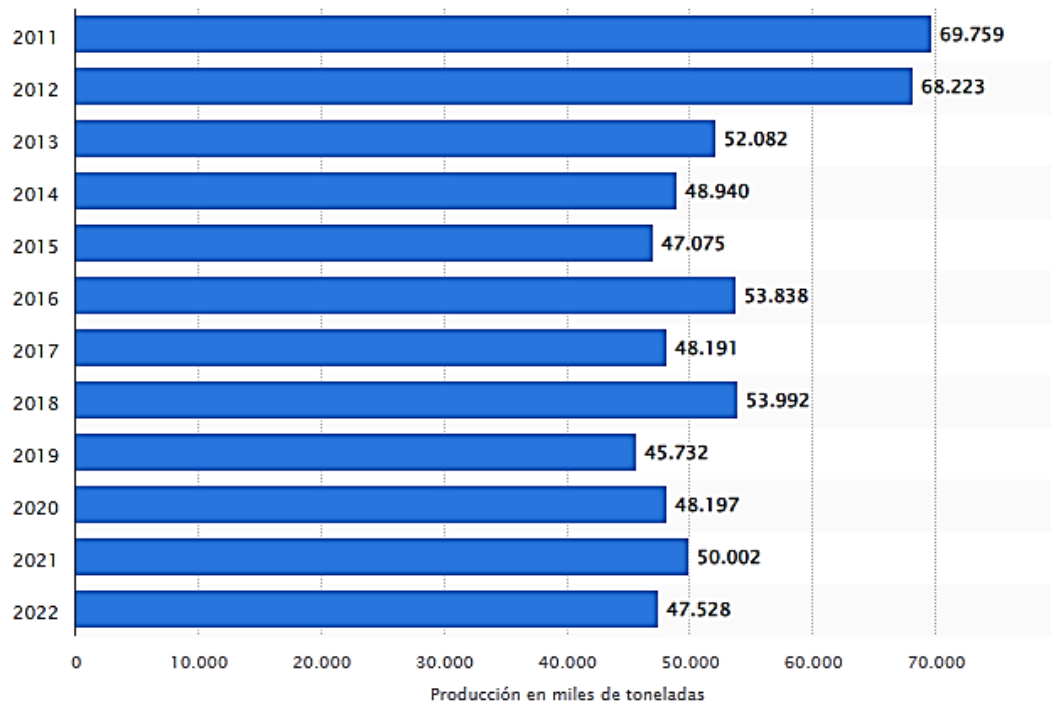
2.4.Producción de la naranja

2.4.1. Producción mundial de la naranja

En 2022, la producción mundial de naranjas registró 47,5 millones de tn, lo que implica una reducción de 2,5 millones de tn en comparación con el año previo; es relevante señalar que, desde 2012, el volumen de producción de esta fruta no ha superado los 60 millones de toneladas; a nivel mundial, la naranja ocupa el cuarto lugar en producción, ubicándose por debajo de frutas como la manzana (Orús, 2024).

Figura 4

Producción anual de naranjas a nivel mundial 2011 - 2022



Nota. Tomado del informe de (Orús, 2024)

2.4.2. Producción de naranja en Ecuador

La producción de naranja se concentra en la región sierra en la parte montañosa que registró un aumento de producción a 6.136.823 ton, mientras que la región costera produjo 59.414ton, y en la región amazónica la producción alcanzó 9.301 ton (Suarez, 2023).

La región costera del país tiene un enorme potencial de producción de cítricos para satisfacer el consumo nacional, esto se debe a las condiciones climáticas y de suelo del Ecuador, esto se debe a la baja infraestructura para esta especie, a diferencia del banano, lo que ha generado pérdidas al intentar lograr grandes producciones de cítricos (Granda, 2021).

2.4.3. Producción de naranja en la provincia Bolívar

El Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) menciona que en Bolívar se concentra 10 500 de las 50 000 ha destinadas al cultivo de naranja en el país, lo que representa el 21% de la producción nacional; los cantones Las Naves, Balsapamba, Caluma y Echeandía, son los principales productores de este cítrico (Moreta, 2022). En particular, el cantón Caluma cuenta con 2 650 ha de cultivos, lo que equivale aproximadamente al 4,73% de la producción nacional de naranjas (T. López, 2022).

2.5. Aprovechamiento de los residuos biomásicos

2.5.1. Cáscara de la naranja

Existe poco conocimiento sobre la piel o cáscara de naranja, que tiene muchas propiedades cuyo efecto en el organismo previene el desarrollo de diversas enfermedades como el cáncer (Doseděl et al., 2021). La piel de naranja tiene un contenido de sacarosa del 24,585%, celulosa del 69,096% y hemicelulosa del 9,015%; el principal nutriente antioxidante de la piel de naranja es la hesperidina en 33,39 mg/g, tiene grandes beneficios para la salud humana, especialmente para el sistema nervioso central (Moya, 2021). Las cáscaras de naranja son ricas en fibra soluble y las de limón también son buenas fuentes de flavonoides, sin embargo, la mayoría de personas desconocen estas propiedades de las cáscaras de naranja y por ello tienden a tirarlas (Ortiz et al., 2023).

Figura 5

Cáscara de naranja



Nota. La cáscara de naranja es la parte externa del fruto, fuente (Naranjasdongusto, 2021).

2.5.2. Composición química de la cáscara de la naranja

El género *Citrus* se distingue por su elevada acumulación de glicósidos de flavonona, compuestos poco comunes en otras frutas, junto con vitamina C y carotenoides, los cuales juegan un rol fundamental en la prevención de enfermedades degenerativas como el cáncer, las afecciones cardiovasculares y las cataratas, al neutralizar procesos oxidativos (Alarcon et al., 2022).

Según análisis, la composición de 100 g de piel de naranja contiene 2,4 mg de fenoles; 0,038 mg de flavonoides totales; 2,9 g de glucosa; 2,3 g de fructosa, 0,9 g de sacarosa y 14,25 mg de ácido ascórbico, determinados mediante HPLC. Además, la fermentación anaeróbica de 2 kg de cáscaras de naranja con *Saccharomyces cerevisiae* generó 20 ml de etanol al 90%, energía suficiente para accionar un termomotor; estos resultados respaldan la viabilidad del uso de cáscaras de naranja como fuente para producir biocombustibles o aditivos alimentarios (Alarcon et al., 2022; Mendoza-Espinoza et al., 2022)

2.5.3. Beneficios de la cáscara de naranja

La piel de naranja tiene muchos beneficios culinarios y para la salud. Rico en fibra y antioxidantes como la vitamina C, ayuda a favorecer la digestión regular y fortalece el sistema inmunológico, previniendo enfermedades crónicas y promoviendo un envejecimiento saludable (Parra, 2020). Según Gamarra (2022), menciona que puede disminuir el riesgo de padecer enfermedades coronarias y aliviar el dolor de articulaciones, debido a sus propiedades antiinflamatorias, su aroma cítrico lo convierte en un valioso aditivo culinario y repelente de insectos natural, además, el contenido de fibra favorece la saciedad, ayudando a controlar el peso, y los antioxidantes protegen y embellecen la piel.

2.5.4. Parámetros de selección de la cáscara de naranja

Los parámetros de selección incluyen varios aspectos importantes: en primer lugar, se tiene en cuenta el color, se busca una tonalidad característica y uniforme, además se examina el olor para detectar cualquier signo de descomposición o cambio, también se analiza la presencia de plagas y cualquier material; esto puede afectar la

calidad, la detección de hongos es otro aspecto fundamental y finalmente se analiza el nivel de pH el cual debe estar en el rango de 4,34 a 4,78 así como el contenido de cenizas que debe estar en el rango de 4,21% a 6,78% (Castillo, 2020).

2.5.5. Industrialización de los residuos biomásicos de la naranja

Los residuos de la naranja constituyen entre el 50% y el 70% del total, generando un alto nivel de desperdicio, esto se debe a las industrias dedicadas a la producción de pulpas y jugos, que consideran los subproductos biomásicos de esta fruta como desechos, sin valorar su potencial aprovechamiento; sin embargo, algunas empresas han comenzado a implementar diversas técnicas para reutilizar estos residuos, destacándose la extracción de aceites, entre otros usos. (Aucatoma & Santillan, 2023).

Los desechos agrícolas, como las cáscaras de cítricos, son una fuente valiosa de materiales naturales, económicos y respetuosos con el medio ambiente que pueden usarse como adsorbentes para eliminar contaminantes acuosos, ayudando así a reducir la contaminación, este enfoque no solo ayuda a reducir los desechos agrícolas, sino que también ofrece oportunidades para agregar valor a estos materiales y promover prácticas sustentables dentro de la industria (Sarabia, 2023)

2.6. Método de extracción

2.6.1. Proceso de arrastre de vapor

Método utilizado para extraer el aceite esencial de las cáscaras, este método consiste en generar vapor de agua que se introduce en un tanque con las cáscaras preparadas, arrastrando los compuestos volátiles donde se separan en dos fases una acuosa y la otra oleosa obteniendo así el aceite esencial (Peña & Guasca, 2023). Para realizar un arrastre de vapor se utiliza un matraz de destilación, conectado a un refrigerante que condensa el vapor (Civallero et al., 2021).

2.7. Maceración

Proceso fundamental para la extracción de compuestos y la preparación de muestras sólido-líquido, en este método se colocan sustancias sólidas como frutas, hierbas o

alimentos en líquidos como agua, vinagre, alcohol u otros líquidos con el objetivo de conseguir los resultados deseados, extraer compuestos solubles presentes en sólidos (Duarte et al., 2020).

2.7.1. Proceso de maceración

El proceso comienza colocando las materias primas vegetales previamente picadas en un depósito adecuado de vidrio o plástico, luego se añade agua ya sea normal o destilada y se cierra herméticamente el recipiente a temperatura ambiente durante un tiempo (Iriarte, 2019). Durante este periodo es importante agitar el recipiente en función del tiempo de maceración y del tipo de materia prima, al finalizar, se procede a decantar el líquido obtenido y a filtrar el producto para confirmar el volumen alcanzado (Armijos, 2023).

Figura 6

Proceso de maceración



Nota. Maceración de cáscaras de naranja en agua.

2.8. Aceites esenciales

El aceite esencial es una fracción líquida, volátil y densa, cuya coloración varía según la especie vegetal de la que proviene; estos aceites se obtienen comúnmente mediante destilación al vapor o extracción líquido-líquido de diferentes partes de plantas, como hojas, flores, raíces, semillas, frutos y madera (Chagua, 2024). Su composición química es altamente compleja y diversa, destacándose la presencia de compuestos alifáticos (como alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y

ácidos), monoterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos, que son los principales grupos funcionales encontrados en ellos (J. López, 2020).

2.8.1. Clasificación de los aceites esenciales

Se estima que existen aproximadamente 3000 tipos de aceites esenciales, de los cuales sólo 300 se mercantilizan actualmente y son altamente empleados en la industria química y farmacéutica (Paucarchuco et al., 2023). Estos aceites se distinguen por sus propiedades físicas, como la viscosidad, la densidad, el índice de refracción y la actividad óptica, las cuales pueden alterarse al combinarse con otros tipos de aceites. En términos generales, su densidad es inferior a la del agua, excepto en casos particulares como los aceites de perejil, canela, mostaza y clavo (Cuzco, 2020).

Tabla 3

Tipos de plantas que se extraen aceites esenciales

Clasificación de los aceites esenciales según su origen	
Parte de la planta	Plantas y Frutos
Bayas	Enebro, Pimienta negra
Flores	Lavanda, Rosas, Jazmín Clavo de Olor, Tomillo, Mejorana, Flores
Madera	Cedro, Ciprés, Sándalo, Canela, Alcanfor
Raíces	Jengibre, Vetiver
Frutas	Limón, Anís verde, Naranja, Bergamota, Pomelo, Hinojo
Resina	Mirra, Incienso
Hojas	Romero, Árbol de té, Melisa, Citronela, Pachuli, Geranio, Menta, Salvia

Nota. Cada aceite esencial tiene propiedades únicas y puede ser utilizado para diferentes propósitos. Tomado y modificado de (Cuzco, 2020).

2.8.2. Propiedades físicas-químicas de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son sustancias volátiles y concentradas obtenidas de plantas, que poseen una amplia variedad de propiedades físicas y químicas; entre sus características físicas, se destaca su alta volatilidad, lo que le permite evaporarse fácilmente a temperatura ambiente, permitiéndoles liberar sus aromas característicos, además, su densidad puede variar lo que influye en su comportamiento físico y su capacidad para mezclarse con otros líquidos, también tienen índices de refracción únicos, lo que facilita su identificación y caracterización (Tránsito & López, 2024).

Las propiedades químicas están compuestas por una variedad de compuestos orgánicos volátiles, incluyendo terpenos, fenilpropanoides y otros, la composición química específica varía según la planta de la que se extraen y puede incluir alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y otros, además, muchos aceites esenciales exhiben propiedades antimicrobianas debido a su composición química, lo que los hace útiles en la conservación de alimentos e insumos para el cuidado personal (Pupiales & Torres, 2024)

2.9. Actividad antioxidante del aceite de naranja

El aceite extraído de la cáscara contiene muchos compuestos bioactivos, incluidos flavonoides, terpenos y vitamina C, que le confieren propiedades antioxidantes, la actividad antioxidante puede contribuir a la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Mora et al., 2022).

2.9.1. Beneficio de los antioxidantes

Los antioxidantes presentes en el aceite de naranja ofrecen varios beneficios significativos para la salud; estos compuestos desempeñan un papel crucial al neutralizar los radicales libres en el organismo, lo que contribuye a reducir el estrés oxidativo y protege las células de los daños provocados por la oxidación; además, los antioxidantes favorecen la salud cardiovascular al disminuir la inflamación y mejorar la función endotelial (Enríquez et al., 2023).

2.9.2. Método ABTS

Este método mide la capacidad antioxidante de la muestra, midiendo su habilidad para minimizar el ABTS catiónico radical, este radical se genera por respuesta de ABT con un agente oxidativo, generalmente produciendo una solución verdosa (Arévalo & Castillo, 2023). Se agrega una muestra del antioxidante a esta solución, y una reducción en la absorción a 734 nm se mide utilizando un espectrofotómetro; una disminución en la absorción es proporcional a la capacidad antioxidante de la muestra (Hernández-Cruz & Pedraza-Chaverri, 2022).

2.9.3. Método FRAP

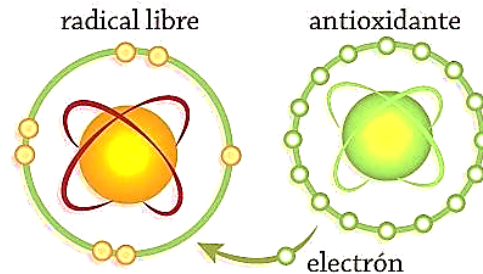
El método FRAP “Potencial de reducción de hierro Ferrik” mide la capacidad antioxidante de las muestras en función de su habilidad para reducir los iones de hierro (Fe^3) a los iones de hierro (Fe^{2+}) (Pilco, 2020). En este proceso, los FRAP reactivos, que contienen cloruro de hierro y tripiridiltriazina “TPTZ” en soluciones ácidas, estos compuestos reaccionan con antioxidantes que están presentes en el aceite de las muestras, formando un complejo de azul intenso. León (2023), menciona que la intensidad del color se mide a 593 nm usando un espectrofotómetro directamente proporcional a la capacidad antioxidante de la muestra.

2.9.4. Radicales libres

Es una entidad química que puede existir en forma neutra o cargada y posee uno o más electrones no apareados en su orbital exterior, la singularidad del radical libre radica en su notable inestabilidad cinética, a medida que aumenta la concentración de estos radicales surge un desequilibrio entre la tasa de producción y la capacidad inhibidora del sistema antioxidante endógeno, este desequilibrio conduce a un fenómeno conocido como estrés oxidativo que está relacionado con diversas enfermedades (Sosa, 2023).

Figura 7

Radicales libres



Nota. Los radicales libres causan daño al ADN, las proteínas y los lípidos, provocando mutaciones y perjudicando así sus funciones naturales. Fuente (Sosa, 2023).

2.9.5. Estrés oxidativo

Es un estado de estrés químico provocado por el acaparamiento excesivo de radicales libres en el cuerpo, derivado de una inestabilidad en la obtención de oxidantes, lo cual afecta negativamente a los aminoácidos que forman las proteínas provocando una serie de cambios incluida la formación de grupos carbonilo que afectan a su estructura, funcionalidad y propiedades (Hernández-Cruz & Pedraza-Chaverri, 2022).

2.10. Actividad antimicrobiana

Este tipo de aceite ha demostrado la actividad antimicrobiana contra una variedad de microorganismos, aunque su efectividad varía dependiendo del tipo de microorganismo y el uso puede tener un efecto inhibitorio sobre bacterias y hongos (Martínez-Alemán et al., 2019).

2.10.1. *Escherichia coli*

Se trata de un bacilo Gram negativo, de la familia *Enterobacteriaceae*, con capacidad aerobia y anaerobia facultativa, y forma de barra, sus dimensiones típicas son de aproximadamente 1-3 μm de longitud por 0,5 μm de ancho, y suele presentarse en grupos, en cadenas cortas, de manera individual o en pares (Denamur et al., 2021).

Existen variantes de *E. coli* que no poseen flagelos ni capacidad de motilidad, no forman esporas y generalmente carecen de cápsula; su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C y se inactiva a 60°C; el pH ideal para su desarrollo es de 7, y tiene la capacidad de fermentar carbohidratos, glucosa y lactosa, produciendo ácido y gas; en agar, crea colonias de forma circular de 3 a 5 mm, con bordes convexos, continuos o ligeramente ondulados, brillantes y de color blanco ligeramente amarillento (Liu et al., 2020).

Las cepas toxigénicas de esta bacteria tienen la capacidad de producir enterotoxinas termolábiles (TL), termoestables (TS) o ambas; la enterotoxina termolábil es una proteína de alto peso molecular con una estructura bioquímica muy pareja a la toxina de *Vibrio cholerae*, siendo muy tóxica; se han identificado al menos cinco grupos diferentes de *E. coli* que llegan a causar gastroenteritis (Montoya & Luna, 2022). Siendo estas las cepas más comunes:

- *E. coli enteropatógena*, que afecta la mucosa intestinal.
- *E. coli enteroinvasiva*, que daña la mucosa del colon.
- *E. coli enterohemorrágica*, responsable de la colitis hemorrágica.
- *E. coli enteroagregativa*, causa diarrea secretora de moco y sangre.
- *E. coli enterotoxigénica*, prevalente en países en desarrollo.

2.10.2. Shigella

Es un patógeno gramnegativo, su forma es de bastón y es intracelular facultativo, se encuentra distribuido mundialmente y es la principal causa de shigelosis en territorios industrializados como Europa, América del Norte y Australia. Esta bacteria evolucionó a partir de *E. coli*, dedicándose a la infección intracelular del epitelio intestinal humano, y su genoma consta de un cromosoma circular que mide 4,99 Mbp y un plásmido de invasión de 216 kbp (pINV), el cual es esencial para su virulencia (Torraca et al., 2020). En términos taxonómicos, *Shigella* pertenece al reino Bacteria, filo Proteobacteria, clase Gammaproteobacteria, orden Enterobacteriales y familia *Enterobacteriaceae*. Sin embargo, el análisis comparativo de su genoma sugiere que *Shigella spp.* son en realidad linajes de *E. coli* (MacLennan et al., 2022).

2.10.3. *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria Gram-positiva que se encuentra comúnmente en las mucosas y la piel humana, capaz de combatir condiciones adversas y producir toxinas que causan diversas enfermedades, desde infecciones de la piel hasta intoxicaciones alimentarias (Monsalve, 2022). Esta bacteria es altamente patógena y causa infecciones de leves a graves, como neumonía y sepsis, su capacidad para desarrollar resistencia frente a antibióticos presenta un desafío importante en entornos clínicos y de salud pública, lo que requiere medidas estrictas de prevención y vigilancia de infecciones (Vela, 2022).

Dentro del género *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* es la especie más relevante desde el punto de vista clínico y de salud pública debido a su capacidad patógena. Sin embargo, *Staphylococcus aureus* se puede clasificar en términos de tipos según su virulencia y propiedades de resistencia antimicrobiana (León, 2023).

2.10.4. *Bacillus*

Bacillus es un género de bacterias Gram positivas que se caracteriza por sus bacilos, es decir, por tener una estructura celular alargada y cilíndrica, estas bacterias son aeróbicas o anaeróbicas facultativas, lo que les permite crecer en presencia o ausencia de oxígeno (Murillo & Pullupaxi, 2019). Se destacan principalmente por su habilidad para generar esporas, que son extremadamente resistentes que les posibilitan subsistir en ambientes extremos, como temperaturas elevadas, exposición a sustancias químicas y sequedad (Cueva, 2022).

Algunas de las especies más conocidas de este género incluyen *Bacillus subtilis*, muy utilizado en la industria biotecnológica por su capacidad para producir enzimas y compuestos de uso industrial, y *Bacillus Anthracis*, agente causante del ántrax, una grave enfermedad que afecta a los mamíferos. incluidos los humanos, aparte de eso, *Bacillus thuringiensis* es conocido por su uso en agricultura como forma de control biológico de plagas de insectos debido a su capacidad de producir toxinas especiales para ciertos insectos (Jurado et al., 2022). Dentro del género *Bacillus*

existe una gran variedad de especies con diferentes propiedades y usos, las especies más conocidas y mejor estudiadas incluyen:

- *Bacillus subtilis*
- *Bacillus cereus*
- *Bacillus Anthracis*
- *Bacilo turingiensico*

2.10.5. Reanimación de cepas bacterianas

Las cepas de referencia son materiales orgánicos que cuentan con un certificado biológico otorgado por el proveedor, quien garantiza que la cepa suministrada es un cultivo puro, previamente caracterizado mediante pruebas morfológicas, bioquímicas y moleculares apropiadas. Estas cepas se almacenan a temperaturas entre 0 y 5 °C hasta su utilización y se siembran empleando el agar adecuado, siguiendo las condiciones de incubación y el procedimiento específico que se detalla en las instrucciones para cada tipo de microorganismo (Becerra et al., 2020).

2.11. Medios de cultivo

2.11.1. Agar Salmonella-Shigella

El agar *Salmonella-Shigella* (S–S) se diseñó con el fin de inhibir el crecimiento de coliformes durante el aislamiento de *Salmonella* y *Shigella spp.*, sus principales agentes selectivos incluyen citrato de sodio, sales biliares y verde brillante mientras que el sistema indicador de H₂S y la fermentación de lactosa actúan como diferenciadores. En este medio, *Salmonella spp.*, se manifiesta como colonias incoloras con un centro negro; para la selección de *Shigella spp.*, su rigurosidad puede dificultar el crecimiento de cepas debilitadas de esta bacteria. Además, una de sus limitaciones principales es la posible aparición de colonias falsas positivas causadas por *Proteus spp.*(Neyaz et al., 2024).

2.11.2. Agar MacConkey

El agar MacConkey (MAC), desarrollado por el bacteriólogo Alfred T. MacConkey (1861-1931), es un medio de cultivo bacteriano diferencial y selectivo diseñado para el aislamiento y diferenciación de bacterias Gram-negativas de rápido crecimiento, especialmente de la familia *Enterobacteriaceae* (Supriatin et al., 2021). Este medio aprovecha la fermentación de lactosa, un proceso que genera ácidos orgánicos, como el ácido láctico, provocando una disminución del pH en el agar. El MAC contiene un indicador de pH que cambia a color rosa en condiciones ácidas, de esta manera, las bacterias Gram-negativas capaces de fermentar lactosa producen colonias rosadas, en contraste con las no fermentadoras de lactosa que generan colonias opacas o de tonalidad blanca (Jung & Hoilat, 2024).

2.11.3. Agar Manitol Salado

Este medio se utiliza para el aislamiento selectivo y el recuento de *Staphylococcus aureus* en productos relacionados con la industria de alimentos, farmacéuticos y cosméticos, destacándose por su alta concentración salina, lo que lo convierte en un medio altamente selectivo. Los estafilococos coagulasa positiva son capaces de hidrolizar el manitol, un edulcorante derivado de la hidrogenación del azúcar manosa, lo que provoca la acidificación del medio; como resultado, las colonias de estas bacterias se presentan rodeadas por una zona de color amarillo brillante, mientras que los estafilococos coagulasa negativos forman colonias rodeadas por una zona roja o púrpura (Caycedo et al., 2021).

En este medio, el extracto de carne y la pluripectona actúan como fuentes de carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales, mientras que el manitol sirve como el hidrato de carbono fermentable; el cloruro de sodio actúa como selectivo que impide el desarrollo de la flora no deseada, mientras que el rojo fenol se utiliza como indicador del pH (Caycedo et al., 2021).

2.11.4. Agar Chromogenic *Bacillus*

Medio básico en polvo, suplemento selectivo y de enriquecimiento para el grupo *Bacillus cereus* en alimentos, sin pruebas confirmatorias. El medio chromogenic tiene un fuerte poder selectivo y permite un recuento más fácil de colonias del grupo *B. cereus* incluso cuando la muestra de alimento está muy contaminada por flora mixta. Las especies de este grupo desarrollan colonias de color rosa-naranja debido a la degradación del compuesto cromogénico y están rodeadas de un halo opaco, producto de la actividad de la fosfolipasa. Debido al alto poder selectivo y especificidad de la reacción de color, las colonias típicas del grupo *B. cereus* desarrolladas en el medio no requieren pruebas confirmatorias (Biolife, 2021).

2.12. Antibiogramas

El antibiograma permite determinar la susceptibilidad de un patógeno frente a un fármaco, clasificando los resultados en categorías de sensible, intermedio o resistente, según los puntos de corte establecidos por diversos comités (Dueñas et al., 2021). Su importancia radica en múltiples beneficios, como la optimización de los tratamientos antimicrobianos de acuerdo con los perfiles de sensibilidad y resistencia, el monitoreo de la sensibilidad de los microorganismos a lo largo del tiempo y de sus mecanismos de resistencia, así como la generación de datos epidemiológicos útiles para implementar medidas de control frente a infecciones causadas por bacterias resistentes (Drummond et al., 2022).

2.12.1. Técnica E-test

La prueba de epsilometría, comúnmente conocida como E-Test, es un método basado en agar para evaluar la susceptibilidad microbiana. Fue desarrollada para superar las limitaciones de los métodos tradicionales de difusión en discos y difusión convencional. Esta prueba de laboratorio se utiliza para medir la concentración inhibitoria mínima (CMI) de un antibiótico frente a un microorganismo específico. Consiste en una tira de plástico impregnada con un gradiente de concentración de antibiótico, la cual se coloca sobre una placa de agar inoculada con el microorganismo en estudio (Alippi et al., 2023).

2.12.2. Difusión en disco (Kirby-Bauer)

El método de Kirby-Bauer, conocido también como difusión en disco, es una técnica estandarizada empleada para evaluar la sensibilidad de las bacterias frente a diversos antibióticos. Esta prueba consiste en inocular una placa de agar con la bacteria de interés y sobreponer sobre la superficie del agar discos saturados con los antibióticos; después de la incubación, se desarrollan zonas de inhibición alrededor de los discos, donde el crecimiento bacteriano ha sido suprimido por el antibiótico. La efectividad del antibiótico se determina midiendo el diámetro de estas zonas de inhibición y comparándolas con los estándares preestablecidos, lo que permite clasificar a la bacteria como sensible, intermedia o resistente al antibiótico utilizado (Sari & Febriawan, 2021).

2.12.3. Concentración mínima inhibitoria (CMI)

La prueba de Concentración Inhibitoria Mínima (CMI) es reconocida como el estándar de referencia para evaluar la susceptibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos (Navarrete et al., 2020). Su interpretación se basa en evaluar el rango de concentraciones del antimicrobiano que permite clasificar la susceptibilidad bacteriana en tres categorías principales: sensible, intermedio o resistente. Un aislado se considera sensible cuando es inhibido in vitro por una concentración del antimicrobiano que predice un alto éxito terapéutico; resistente cuando la inhibición ocurre a una concentración que indica un alto riesgo de fracaso del tratamiento; e intermedio cuando la inhibición sugiere un efecto terapéutico incierto o posiblemente inferior al observado en las cepas sensibles (Drummond et al., 2022).

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Ubicación de la investigación

El desarrollo de la investigación se llevó a cabo en los Laboratorios de Investigación y Vinculación, así como en el complejo agroindustrial de la Universidad Estatal de Bolívar, ubicada en la provincia de Bolívar, cantón Guaranda, con coordenadas este 722773 y norte 9821524.1, en la zona 17M del sur del Ecuador.

3.1.1. Localización de la investigación

La localización de la investigación se presenta a continuación en la tabla 4.

Tabla 4

Localización de la investigación

Provincia	Bolívar
Cantón	Guaranda
Parroquia	Gabriel Ignacio Veintimilla
Sector	Laguacoto II
Dirección	Laguacoto II. (Guaranda Km. 1 ½ vía San Simón)

3.1.2. Situación geográfica y edafoclimática

La situación geográfica y edafoclimática se presenta en la Tabla 5, información tomada de la Estación Meteorológica Laguacoto.

Tabla 5

Aspectos generales del territorio

Parámetros	Valores
Altitud promedio	2 630 msnm
Latitud	01° 36'52''S
Longitud	78° 59'54''W
Temperatura máxima	21 °C
Temperatura mínima	7 °C
Temperatura media	14,4 °C
Precipitación media anual	980 mm
Humedad relativa	70%
Heliofanía promedio	900 horas/luz/año
Velocidad de viento	6 m/s

Nota. Tomado de la Estación Meteorológica Laguacoto II. UEB 2021.

3.1.3. Zona de vida

El área donde se realizó la investigación pertenece al bosque húmedo montano bajo (BHMB), según la clasificación del botánico y climatólogo Leslie Holdridge.

3.2. Metodología

3.2.1. Material en estudio

Cáscara de naranja de la variedad agria y valenciana proveniente del cantón Caluma, de la provincia Bolívar

3.2.2. Factores de estudio

En el presente estudio se aplicaron dos diseños de experimentos, el primero para determinar el efecto antimicrobiano y el segundo para determinar la actividad antioxidante. A continuación, en la Tabla 6, se presenta los dos factores en estudio para el efecto antimicrobiano, siendo A: Variedad de naranja con dos niveles y B: Efecto antimicrobiano con cuatro niveles.

Tabla 6*Factores de estudio para el efecto antimicrobiano*

Factores	Código	Nivel
Variedad de Naranja	A	a_1 : Naranja Valenciana
		a_2 : Naranja Agria
Efecto Antimicrobiano	B	b_1 : <i>E. Coli</i>
		b_2 : <i>Shigella</i>
		b_3 : <i>Staphylococcus aureus</i>
		b_4 : <i>Bacillus cereus</i>

Para el segundo diseño, en la Tabla 7, se presenta los factores considerados para el efecto antioxidante, siendo A: Variedad de naranja con dos niveles y B: Efecto antioxidante con dos niveles.

Tabla 7*Factores considerados para el efecto antioxidante*

Factores	Código	Nivel
Variedad de Naranja	A	a_1 : Naranja Valenciana
		a_2 : Naranja Agria
Efecto Antioxidante	B	b_1 : FRAP
		b_2 : ABTS

3.2.3. Tratamientos

Los tratamientos se formaron mediante la mezcla de cada uno de los niveles de los factores AxB. Por consiguiente, en la Tabla 8, se presenta las combinaciones de los niveles correspondientes al primer diseño (efecto antimicrobiano).

Tabla 8*Combinación para el efecto antimicrobiano*

Tratamiento	Código	Niveles	
		Variedad de Naranja	Efecto Antimicrobiano
T1	$a_1 b_1$	Naranja Valenciana	<i>E. coli</i>
T2	$a_1 b_2$	Naranja Valenciana	<i>Shigella</i>
T3	$a_1 b_3$	Naranja Valenciana	<i>Staphylococcus aureus</i>
T4	$a_1 b_4$	Naranja Valenciana	<i>Bacillus cereus</i>
T5	$a_2 b_1$	Naranja Agria	<i>E. coli</i>
T6	$a_2 b_2$	Naranja Agria	<i>Shigella</i>
T7	$a_2 b_3$	Naranja Agria	<i>Staphylococcus aureus</i>
T8	$a_2 b_4$	Naranja Agria	<i>Bacillus cereus</i>

Nota. Para el análisis inhibitorio se utilizó diferentes concentraciones de aceite esencial (5, 10 y 15 μg) en un total de 16 muestras.

Para el segundo diseño, se presenta en la Tabla 9, las combinaciones de los niveles para el efecto antioxidante.

Tabla 9*Combinación para el efecto antioxidante*

Tratamiento	Código	Niveles	
		Variedad de Naranja	Efecto Antioxidante
T1	$a_1 b_1$	Naranja Valenciana	FRAP
T2	$a_1 b_2$	Naranja Valenciana	ABTS
T3	$a_2 b_1$	Naranja Agria	FRAP
T4	$a_2 b_2$	Naranja Agria	ABTS

3.2.4. Tipo de diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con un arreglo factorial AXB (2x4) y AXB (2x2), con tres repeticiones, con el fin de determinar las diferencias entre los tratamientos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), ajustándose al modelo matemático correspondiente.

Modelo del diseño

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + E_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk}: Variable sujeta a medición

μ: Representa la media global

A_i: Es el efecto del factor A

B_j: Efecto del factor B

(AB)_{ij}: Efecto de la interacción A x B

E_{ijk}: Efecto Del Error Experimental Aleatorio.

Modelo de análisis de varianza (ANOVA)

Se realizaron análisis comparativos entre los tratamientos para evaluar posibles diferencias estadísticas en ambos experimentos, utilizando para ello un análisis de varianza (ANOVA).

Tabla 10

Análisis de varianza (ANOVA) para el diseño en arreglo factorial AxB

Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F ₀	Valor-p
Efecto A	SC _A	a-1	CM _A	CM _A /CM _E	P(F > F ₀ ^A)
Efecto B	SC _B	b-1	CM _B	CM _B /CM _E	P(F > F ₀ ^B)
Efecto AB	SC _{AB}	(a-1)(b-1)	CM _{AB}	CM _{AB} /CM _E	P(F > F ₀ ^{AB})
Error	SC _E	ab(n-1)	CM _E		
Total	SC _T	abn-1			

Modelo de pruebas de rangos múltiples

Se utilizaron pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para determinar el tratamiento más adecuado.

Modelo de LSD

$$LSD = t_{\left(\frac{\alpha}{2}, N-k\right)} x \sqrt{2CN_E/n}$$

Donde:

LSD: Valor de la diferencia mínima significativa

$t_{\frac{\alpha}{2}}$: Valor de la tasa T - Student a una cierta significancia.

$N - k$: Grados de libertad que corresponden al error.

$2CN_E$: Cuadro medio del error.

n : Número de observaciones para los tratamientos i y j

3.2.5. Descripción técnica del ensayo

Se describieron las características del experimento, incluyendo el número de factores, los niveles de cada factor, el número de réplicas y la variable de respuesta, basándose en los factores analizados para los diseños del estudio (efecto antimicrobiano y efecto antioxidante).

Tabla 11

Características del experimento para efecto antimicrobiano

Características	Cantidad
Unidad experimental	50 gr
Números de factores experimentales	2
Niveles Factor A	2
Niveles Factor B	4
Tratamientos	8
Número de repeticiones	2

Números de unidades experimentales	16
Variable respuesta (Tamaño Halos)	1

Tabla 12

Características del experimento efecto antioxidante

Características	Cantidad
Unidad experimental	50 gr
Números de factores experimentales	2
Niveles Factor A	2
Niveles Factor B	2
Tratamientos	4
Número de repeticiones	3
Números de unidades experimentales	12
Variable respuesta (AATI)	1

3.2.6. Manejo de la investigación

3.2.6.1. Proceso de obtención del aceite esencial de naranja

Descripción del diagrama de flujo

El proceso consta de varias etapas que incluyen: a) recepción y preparación de la materia prima; b) selección; c) troceado de la cáscara de naranja; d) maceración; e) triturado; f) destilación; g) decantación y separación; h) envasado y finalmente, i) almacenamiento. A continuación, se detallan cada una de estas fases del proceso.

- **Recepción y preparación de la materia prima**

La materia prima provino de Caluma, ubicada en la provincia de Bolívar, Ecuador, la cual se llevó a los predios de la Universidad Estatal de Bolívar, se colocó en cajas para su fácil manejo. Las naranjas se lavaron para eliminar cualquier residuo que pudiera afectar la estructura del aceite esencial, para ello se sumergieron todas en un limpiador con agua corriente.

- **Selección**

Para este proceso, se escogieron alrededor de 40 naranjas, asegurándose de que estuvieran en un estado óptimo; se eliminaron las impurezas y los tallos de la fruta para evitar contaminantes en el producto final.

- **Troceado**

Para llevar a cabo este proceso, se pelaron las naranjas para extraer únicamente la parte del flavedo que contiene el aceite esencial; una vez obtenida la cantidad necesaria de piel de naranja, se cortó en trozos pequeños utilizando una tabla de cortar y un cuchillo, y se pesaron 400 g de cáscara.

- **Maceración**

En matraces de 1 L separados, se colocaron 400 g de cáscara picada y 500 ml de agua destilada al 0,7% (3,5 g) de bicarbonato de sodio, dejándose reposar entre 8 y 12 horas para cada extracción.

- **Triturado**

Se utilizó una licuadora para triturar gradualmente las cáscaras, facilitando así la extracción del aceite esencial; una vez triturado, se colocó el material en una bola para iniciar la destilación.

- **Destilación**

El líquido resultante se transfirió a un matraz de destilación, añadiendo un 15% (60 ml) de agua destilada en relación con la cáscara. Luego, se encendió el equipo de destilación para alcanzar el punto de ebullición, asegurándose de no superar los 100 °C.

- **Decantación y separación**

Una vez completada la destilación, se colocó el líquido en un embudo de decantación con tapa, dejándolo reposar durante 24 horas para permitir que el aceite se separe del agua debido a la diferencia de densidad, formando dos capas.

- **Envasado**

El aceite esencial 100% puro se transfirió a frascos de vidrio color ámbar, etiquetados con los detalles de cada tratamiento, para su posterior evaluación de rendimiento..

- **Almacenamiento**

Las muestras se almacenaron en un lugar fresco, seco y limpio, con una temperatura inferior a 20 °C y superior a 4 °C.

Diagrama de flujo del proceso de la extracción del aceite esencial

Figura 8

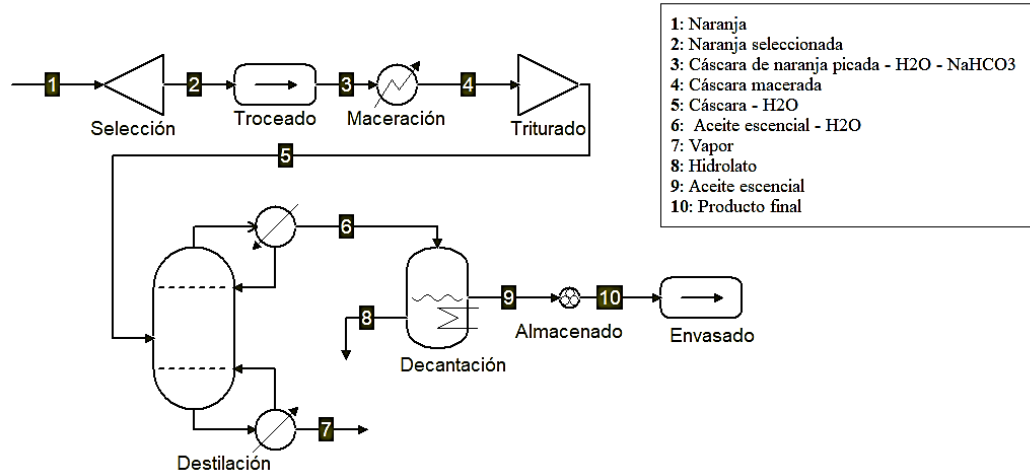
Diagrama de flujo de la extracción del aceite de la cáscara de naranja



Diagrama de proceso de extracción del aceite esencial

Figura 9

Etapas del enfoque ingenieril para la extracción de aceite esencial



Nota. Diagrama realizado en el programa COCO.

3.2.6.2. Rendimiento del aceite esencial

Después de obtener el aceite esencial de las cáscaras de la naranja por el método de destilación simple, se evaluó el rendimiento, mediante la metodología de Melo, (2020), por lo que se aplicó la siguiente ecuación.

$$P = \left(\frac{M_1}{M_2} \right) \times 100$$

Donde:

P: Rendimiento

M₁: Es la masa final del aceite esencial

M₂: La masa inicial del follaje

100: Es una constante matemática

3.2.6.3.Determinación de la actividad antimicrobiana y antioxidante

3.2.6.3.1. Determinación de la actividad antimicrobiana

Las cepas bacterianas que se utilizaron fueron de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella spp* y *Bacillus* previamente caracterizadas del banco de microorganismos del laboratorio General de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y del laboratorio de Investigación y Vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar.

Para la reanimación bacteriana de las cepas se utilizaron los siguientes medios de cultivo específicos: el agar MacConkey, selectivo para bacterias gramnegativas y que contiene lactosa para identificar la fermentación, fue empleado para *E. coli* (Hinenoya et al., 2020). Para *Staphylococcus aureus*, se utilizó agar sal manitol, un medio selectivo y diferencial que permite identificar esta bacteria por su capacidad de fermentar el manitol (Montero-Recalde et al., 2019). En el caso de *Shigella spp.*, se empleó el medio SS (*Salmonella-Shigella*), que es selectivo e inhibe el crecimiento de bacterias grampositivas (Yesigat et al., 2020) Finalmente, para *Bacillus spp.*, se utilizó el *Chromogenic bacillus*, conocido por favorecer un crecimiento rápido.

Todas las cepas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Los medios de cultivo fueron preparados en matraces siguiendo las especificaciones del fabricante, posteriormente esterilizados en autoclave a 121 °C durante 15 minutos y luego vertidos de forma equitativa en cajas Petri. Estas se dejaron en reposo durante 10 minutos para permitir la gelificación. El proceso de preparación, control de calidad y almacenamiento de los medios siguió las directrices establecidas en la norma UNE-EN ISO 7218 (2008).

Análisis de la actividad antimicrobiana

Para determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial frente a los microorganismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella spp.* y *Bacillus spp.*, se empleó el método de difusión en disco, para lo cual, se empleó discos de antibiograma de 6 mm de diámetro que fueron impregnados con el aceite esencial

de naranja a concentraciones de 5, 10 y 15 μg , posteriormente, los discos se colocaron sobre los medios inoculados con las respectivas bacterias, para lo cual se consideró la escala de dilución de McFarland al 0,5. La actividad antimicrobiana se evaluó midiendo el halo de inhibición en milímetros; un mayor tamaño del halo indica una mayor efectividad antimicrobiana del aceite esencial (Rojas, 2022).

3.2.6.3.2. Determinación de la actividad antioxidante

Método ABTS

Inicialmente, se preparó la solución del radical ABTS^+ mezclando 5 mL de solución ABTS (7 mM) con 88 μL de persulfato de potasio (140 mM); la mezcla se dejó reaccionar en la oscuridad durante 12 horas, posterior, la solución se diluyó con un buffer de ácido acético-acetato de sodio (pH 5) hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 nm. A partir de esta dilución, se tomaron 190 μL , a los que se añadieron 10 μL del aceite esencial, esta mezcla se dejó reaccionar durante 5 minutos a temperatura ambiente, y la absorbancia se midió a una longitud de onda de 734 nm utilizando un espectrofotómetro NanoDrop (Thermo Scientific). Para la construcción de la curva patrón, se empleó trolox como estándar antioxidante en un rango de 0 a 200 $\mu\text{mol/L}$ (Huaraca et al., 2022).

Método FRAP

Para preparar el reactivo FRAP, se mezclaron 2.5 mL de tampón de acetato de sodio anhidro, 2.5 mL de FeCl_3 , y 2.5 mL de TPTZ, obteniendo una coloración caramelo como indicativo de la correcta preparación; la mezcla se incubó durante 30 minutos en un baño termostataado a 37 °C, protegido de la luz. Posteriormente, se prepararon tubos eppendorf de 1.5 mL, a las que se añadieron 30 μL de agua destilada, 30 μL de muestra de aceite esencial y 900 μL del reactivo FRAP. Para el control blanco, se sustituyó la muestra por 30 μL de etanol. Los tubos se incubaron nuevamente a 37 °C durante 30 minutos y se midió la absorbancia a 595 nm; para la curva de calibración se construyó empleando distintas concentraciones de Trolox disueltas en etanol al 96% (Martínez, 2020).

3.2.6.4. Evaluación de la concentración mínima inhibitoria mediante E- test.

Para esta prueba se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo; inicialmente, se prepararon las soluciones de los antibióticos Ceftriaxona y Amoxicilina a concentraciones de 5 µg, 10 µg y 15 µg mediante dilución con agua destilada estéril. En placas Petri con el agar previamente gelificado, se sembraron las bacterias de interés y las placas fueron incubadas durante 48 horas a una temperatura de 30 °C. A continuación, se depositaron fragmentos de plástico esterilizado y discos de papel filtro impregnados con las soluciones de los antibióticos sobre el agar; una vez concluido el período de incubación, se midieron los halos de inhibición alrededor de las tiras para evaluar la efectividad de las concentraciones utilizadas. (Lim et al., 2020).

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Interpretación de resultados

4.1.1. Extracción del aceite de la corteza de la naranja por arrastre de vapor.

En esta etapa del procedimiento se emplearon 3,5 g de NaHCO_3 , 200 g de cáscara de naranja, 180 mL de alcohol, 60 g de H_2O . Durante el proceso, se observó que la temperatura fue de 23°C , 45°C , 60°C y 70°C en un tiempo de condensación de 65 min, para la cáscara de naranja valenciana, mientras que en la cáscara de naranja agria la temperatura fue de 10°C , 30°C , 60°C y 70°C en un tiempo de condensación de 65 min.

En cuanto al rendimiento de aceite esencial, la cáscara de naranja agria produjo 5 mL de igual manera, la cáscara de naranja valenciana generó 5 mL. El rendimiento porcentual (P) fue de 1,25% para las dos variedades de naranja estudiadas.

Se calculó utilizando la fórmula:

$$P = \left(\frac{M_1}{M_2} \right) \times 100$$

$$P_{\text{naranja agria}} = \left(\frac{5}{400} \right) \times 100 = 1,25\%$$

$$P_{\text{naranja valenciana}} = \left(\frac{5}{400} \right) \times 100 = 1,25\%$$

Los resultados del proceso de destilación se presentan en la Figura 10, indicando la obtención de dos productos principales: el hidrolato y el aceite esencial, ambos extraídos a partir de la cáscara de naranja agria y valenciana. Estos productos se separaron mediante el proceso de decantación, aprovechando la diferencia de densidades entre las fases acuosa (hidrolato) y oleosa (aceite esencial)..

Figura 10

Obtención del aceite esencial a partir de la cáscara de naranja



Nota. Se observa la separación de aceite esencial

Esto indica que tanto la cáscara de naranja agria y valenciana obtuvieron el mismo rendimiento de aceite esencial; según el estudio de Mayo & Días (2023), al extraer aceite esencial de la cáscara de naranja valenciana (*Citrus sinensis*) mediante pulsos de vapor a una temperatura de 97 °C y 207 pulsos, se obtuvo un rendimiento del 3,04%. Por otro lado, Díaz (2020), reportó un rendimiento del 0,249% al extraer aceite esencial de subproductos del jugo de naranja (*Citrus sinensis L.*) mediante arrastre por vapor, utilizando un tiempo de extracción de 68 minutos y una relación masa: solvente de 1:5.

Estos resultados destacan cómo las condiciones del proceso y el método de extracción influyen significativamente en el rendimiento de aceite esencial obtenido.

4.1.2. Capacidad antioxidante del aceite esencial de naranja por el método ABTS Y FRAP

A continuación, se presenta los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante de los aceites esenciales extraídos de las variedades de naranja valenciana (*Citrus sinensis*) y agria (*Citrus aurantium*), analizados mediante los métodos FRAP y ABTS.

Tabla 13

Tratamientos de la capacidad antioxidante de la naranja valenciana y agria

Tratamiento	Variedad de Naranja	de Efecto Antioxidante	Capacidad antioxidante
T1	Naranja Valenciana	FRAP	200,31
T2	Naranja Valenciana	ABTS	431,58
T3	Naranja Agria	FRAP	69,27
T4	Naranja Agria	ABTS	158,514
T1	Naranja Valenciana	FRAP	187,21
T2	Naranja Valenciana	ABTS	438,08
T3	Naranja Agria	FRAP	69,27
T4	Naranja Agria	ABTS	152,012
T1	Naranja Valenciana	FRAP	174,1
T2	Naranja Valenciana	ABTS	444,582
T3	Naranja Agria	FRAP	75,82
T4	Naranja Agria	ABTS	158,514

La Tabla 13 presenta las combinaciones evaluadas entre las variedades de naranja (valenciana y agria) y su respectivo efecto antioxidante, expresado en $\mu\text{mol ET/muestra}$; en este análisis se utilizó un factor de dilución de 1 para garantizar la precisión de las mediciones. Los resultados reflejan las diferencias en la capacidad antioxidante de las muestras obtenidas de ambas variedades de naranja, evaluadas mediante los métodos ABTS y FRAP.

Análisis de Varianza para Capacidad antioxidante

Tabla 14

ANOVA AxB para capacidad antioxidante

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<i>Efectos principales</i>					
A: Variedad de Naranja	118497,	1	118497,	1955,42	0,0000**
B: Efecto antioxidante	84554,8	1	84554,8	1395,31	0,0000**
<i>Interacciones</i>					
AB	20662,2	1	20662,2	340,96	0,0000**
<i>Residuos</i>	484,794	8	60,5992		
<i>Total (corregido)</i>	224199,	11			

Nota. **: Diferencia estadística altamente significativa; Todas las razones-F se calculan a partir del cuadrado medio del error residual.

La Tabla 14 muestra tres valores de p menores a 0.05, lo que indica que los factores evaluados tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la capacidad antioxidante, con un nivel de confianza del 95%. Este hallazgo evidencia que ambas variedades de naranja presentan propiedades antioxidantes medibles y diferenciables mediante los métodos de análisis utilizados.

Pruebas de Múltiple Rangos para Capacidad antioxidante por Variedad de Naranja

Tabla 15

Método: 95,0 porcentaje LSD (Capacidad antioxidante por Variedad de Naranja)

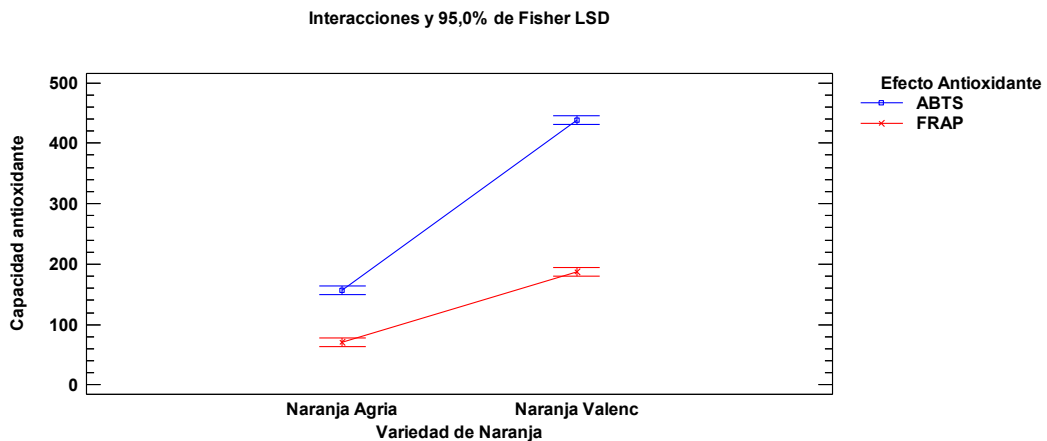
Variedad de Naranja	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Naranja Agria	6	113,9	3,17803	X
Naranja Valenciana	6	312,644	3,17803	X

La Tabla 15, se muestran las diferencias significativas entre las medias de las capacidades antioxidantes de las variedades de naranja, determinadas mediante el método de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Se destaca que la comparación entre las dos variedades presenta una diferencia significativa de -

198.744, lo cual resalta una mayor capacidad antioxidante en la variedad valenciana en comparación con la variedad agria.

Figura 11

Gráfica de interacciones y medias para variedad de naranja



La Figura 11 ilustra que la capacidad antioxidante de la naranja valenciana (*Citrus sinensis*) es mayor en ambas metodologías evaluadas, este resultado es consistente tanto para el método ABTS, donde se registró el mayor efecto antioxidante, como para el método FRAP.

Pruebas de Múltiple Rangos para Capacidad antioxidante por Efecto Antioxidante

Tabla 16

Método: 95,0 porcentaje LSD (Capacidad antioxidante por Efecto Antioxidante)

Efecto Antioxidante	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
FRAP	6	129,33	3,17803	X
ABTS	6	297,214	3,17803	X

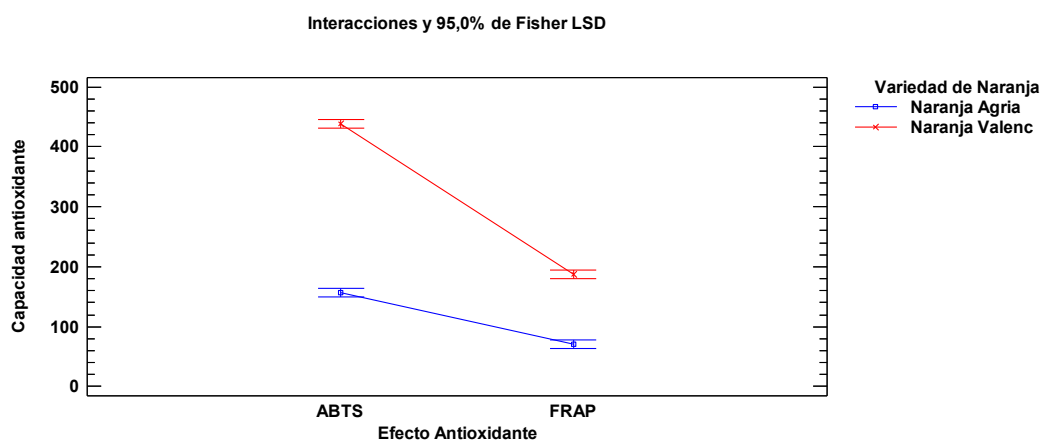
La Tabla 16, se muestran las diferencias significativas entre las medias de las capacidades antioxidantes por el efecto antioxidante, determinadas mediante el método de LSD de Fisher. Los resultados evidencian una diferencia significativa de

167.884 unidades entre los valores obtenidos con los métodos ABTS y FRAP. Este resultado pone de manifiesto la superioridad del método ABTS para detectar la capacidad antioxidante en las muestras analizadas.

La diferencia observada puede atribuirse a la mayor sensibilidad del método ABTS, que evalúa tanto antioxidantes hidrofílicos como lipofílicos, ampliando así el rango de compuestos detectados en comparación con FRAP, el cual se centra únicamente en la transferencia de electrones. Este aspecto es especialmente relevante en muestras como los aceites esenciales, donde predominan compuestos lipofílicos con alta actividad antioxidante (Enríquez, 2021).

Figura 12

Gráfica de interacciones y medias para efecto antioxidante



La Figura 12 muestra los resultados obtenidos para la capacidad antioxidante de las diferentes variedades de naranja evaluadas mediante el método ABTS. Este método, conocido por su capacidad para medir antioxidantes tanto hidrofílicos como lipofílicos, demuestra ser más sensible para evaluar la capacidad antioxidante en comparación con otros métodos como el FRAP. En particular, se observa que la variedad valenciana presenta una capacidad antioxidante superior en relación con la variedad de naranja agria.

Tabla 17

Capacidad antioxidante de la naranja valenciana y agria evaluada por el método FRAP y ABTS

Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 276	Aceite esencial de naranja valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	Actividad antioxidante	ABTS (Acido2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico)	μmol ET/l muestra	438,08
INV 277	Aceite esencial de naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)				156,35
INV 276	Aceite esencial de naranja valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	Actividad antioxidante	FRAP (poder antioxidante reductor férrico)	μmol ET/l muestra	187,21
INV 277	Aceite esencial de naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)				71,45

La Tabla 17 presenta los resultados del análisis de la actividad antioxidante de aceites esenciales de dos variedades de naranja: valenciana (*Citrus sinensis*) y agria (*Citrus aurantium*), utilizando los métodos ABTS y FRAP. Los resultados están expresados en μmol equivalentes de Trolox por litro de muestra (μmol ET/L).

Por el método ABTS, el aceite de naranja valenciana presenta una capacidad antioxidante significativamente mayor (casi 2,8 veces superior) en comparación con el aceite de naranja agria. Por el método FRAP, de manera similar, la capacidad antioxidante medida también es mayor en el aceite de naranja valenciana, siendo aproximadamente 2.6 veces superior a la de la naranja agria. Sin embargo, los valores absolutos obtenidos por FRAP son menores que los obtenidos por ABTS, lo cual es consistente con la menor sensibilidad de este método para detectar antioxidantes no reductores.

De acuerdo con la investigación de Gonzales & Pérez (2023), la naranja agria presentó una capacidad antioxidante de $179,21 \mu\text{MTroloxeq./mL}$ de muestra evaluada mediante el método ABTS. Además, Higuera (2024), realizó un estudio sobre la extracción sólido-líquido de la naranja valenciana, considerando factores como la temperatura, la relación sólido/líquido, la viscosidad, y el tiempo de extracción, la muestra fue secada al vacío y triturada. A partir de esto se obtuvieron resultados de $44,8 \pm 1,9 \mu\text{g/mL}$ y $30,6 \pm 1,2 \mu\text{g/mL}$ para el radical DPPH, y $2,90 \text{ mg GAE/g}$ y $3,61 \text{ mg GAE/g}$ para los fenoles totales. Los resultados indican que el extractante cloruro de colina y etilenglicol en proporción 1:4 mostró la mayor capacidad antioxidante.

4.1.3. Efecto antimicrobiano del aceite en cepas de *E. coli*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus* mediante difusión disco placa.

A continuación, se presenta los resultados obtenidos para el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales extraídos de las variedades de naranja valenciana (*Citrus sinensis*) y agria (*Citrus aurantium*), analizados mediante difusión disco-placa.

Tabla 18

Tratamientos del efecto antimicrobiano de la naranja valenciana y agria

Tratamiento	Variedad de Naranja	Efecto antimicrobiano	Tamaño del halo
T1	Naranja Agria	<i>E. Coli</i>	20
T2	Naranja Agria	<i>Shigella</i>	16
T3	Naranja Agria	<i>Staphylococcus a</i>	30
T4	Naranja Agria	<i>Bacillus cereus</i>	30
T5	Naranja Valenciana	<i>E. Coli</i>	0
T6	Naranja Valenciana	<i>Shigella</i>	0
T7	Naranja Valenciana	<i>Staphylococcus a</i>	0
T8	Naranja Valenciana	<i>Bacillus cereus</i>	0
T1	Naranja Agria	<i>E. Coli</i>	19
T2	Naranja Agria	<i>Shigella</i>	16
T3	Naranja Agria	<i>Staphylococcus a</i>	29
T4	Naranja Agria	<i>Bacillus cereus</i>	29
T5	Naranja Valenciana	<i>E. Coli</i>	0
T6	Naranja Valenciana	<i>Shigella</i>	0
T7	Naranja Valenciana	<i>Staphylococcus a</i>	0
T8	Naranja Valenciana	<i>Bacillus cereus</i>	0

La Tabla 18 presenta las combinaciones evaluadas entre las variedades de naranja (valenciana y agria) y su efecto antimicrobiano medido mediante el tamaño del halo, expresado en mm. Los resultados reflejan que la variedad de naranja agria (*Citrus aurantium*) tiene un efecto antimicrobiano en contraste con la valenciana (*Citrus sinensis*) que tiene nula concentración de compuestos con capacidad antimicrobiana.

Análisis de Varianza para Efecto antimicrobiano

Tabla 19

ANOVA AxB para efecto antimicrobiano

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<i>Efectos principales</i>					
A: Variedad de Naranja	2232,56	1	2232,56	11907,00	0,0000**
B: Efecto antimicrobiano	144,188	3	48,0625	256,33	0,0000**
<i>Interacciones</i>					
AB	144,188	3	48,0625	256,33	0,0000**
Residuos	1,5	8	0,1875		
Total (corregido)	2522,44	15			

Nota. **: Diferencia estadística altamente significativa; Todas las razones-F se calculan a partir del cuadrado medio del error residual.

La Tabla 19 muestra tres valores de p menores a 0.05, lo que indica que los factores evaluados tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el efecto antimicrobiano, con un nivel de confianza del 95%. Este hallazgo evidencia que la el aceite de la variedad de naranja presenta inhibición frente a diferentes bacterias.

Pruebas de Múltiple Rangos para Tamaño del halo por Variedad de Naranja

Tabla 20

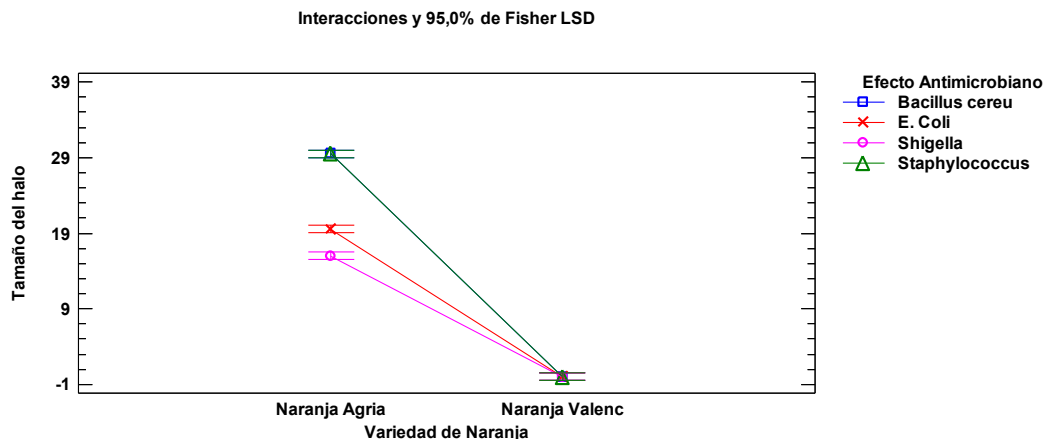
Método: 95,0 porcentaje LSD (Tamaño del halo por Variedad de Naranja)

Variedad de Naranja	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Naranja Valenciana	8	0	0,153093	X
Naranja Agria	8	23,625	0,153093	X

La Tabla 20, se muestran las diferencias significativas entre las medias del tamaño del halo de los aceites esenciales de las variedades de naranja, determinadas mediante el método de LSD. Se destaca que la comparación entre las dos variedades presenta una diferencia significativa de 23,625, lo cual resalta un mayor efecto antimicrobiano en la variedad agria en comparación con la variedad valenciana.

Figura 13

Gráfica de interacciones y medias para variedad de naranja por tamaño del halo



La Figura 13 ilustra el efecto antimicrobiano de la naranja agria (*Citrus aurantium*), donde se observa que existe un mayor tamaño del halo de inhibición con la bacteria *Staphylococcus* y *Bacillus cereu*.

Pruebas de Múltiple Rangos para Tamaño del halo por Efecto Antimicrobiano

Tabla 21

Método: 95,0 porcentaje LSD (Tamaño del halo por Efecto Antimicrobiano)

Efecto Antimicrobiano	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
<i>Shigella</i>	4	8,0	0,216506	X
<i>E. Coli</i>	4	9,75	0,216506	X
<i>Staphylococcus</i>	4	14,75	0,216506	X
<i>Bacillus</i>	4	14,75	0,216506	X

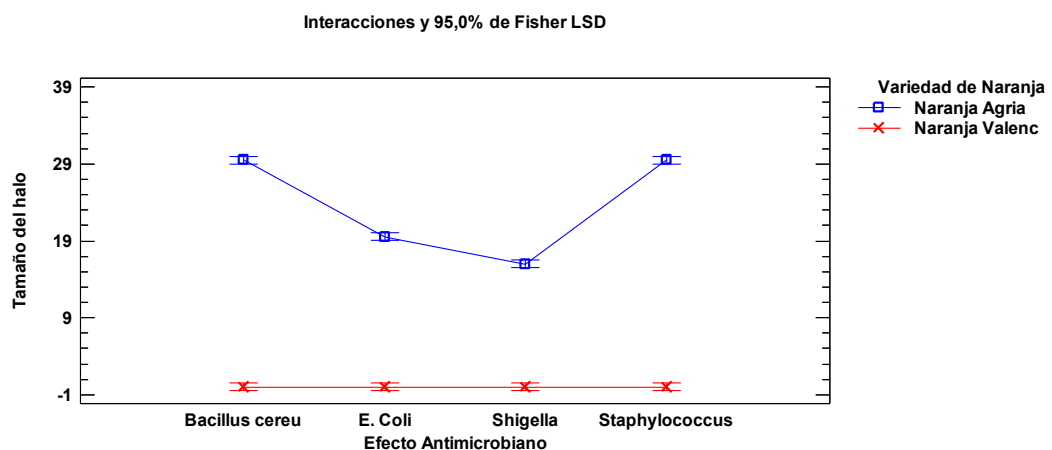
Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
<i>Bacillus cereu</i> - <i>E. Coli</i>	*	5,0	0,706068
<i>Bacillus cereu</i> - <i>Shigella</i>	*	6,75	0,706068
<i>Bacillus cereu</i> - <i>Staphylococcus</i>		0	0,706068
<i>E. Coli</i> - <i>Shigella</i>	*	1,75	0,706068
<i>E. Coli</i> - <i>Staphylococcus</i>	*	-5,0	0,706068
<i>Shigella</i> - <i>Staphylococcus</i>	*	-6,75	0,706068

Nota. * indica una diferencia significativa.

La Tabla 21 muestra las diferencias significativas entre las medias del efecto antimicrobiano en diferentes tipos de bacterias; los resultados evidencian una diferencia significativa especialmente para *E. Coli*, *Staphylococcus* y *Bacillus*, siendo *Shigella* la de menor media.

Figura 14

Gráfica de interacciones y medias para efecto antimicrobiano



La Figura 14 presenta los resultados del efecto antimicrobiano de los aceites esenciales extraídos de diferentes variedades de naranja frente a diversos tipos de microorganismos. Los datos evidencian que *Bacillus* y *Staphylococcus* mostraron los mayores halos de inhibición al ser tratados con el aceite esencial de naranja agria, este efecto fue seguido por *E. coli*, que presentó una inhibición moderada, y finalmente por *Shigella spp.*, que mostró el menor halo de inhibición en comparación con las otras bacterias evaluadas.

Tabla 22

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de la naranja valenciana (Citrus sinensis) y naranja agria (Citrus aurantium)

Bacterias	Medio de cultivo	Muestra 1	Antibiograma	Muestra 2	Antibiograma
<i>Bacillus spp.</i>	<i>Chromogenic bacillus</i>	Naranja agria	Presenta actividad Antibacteriana halo de inhibición (30mm)	Naranja valenciana	No presenta actividad
<i>Escherichia. Coli</i>	MacConkey	Naranja agria	Presenta actividad Antibacteriana halo de inhibición (20mm)	Naranja valenciana	No presenta actividad
<i>Staphylococcus aureus</i>	Manitol salado	Naranja agria	Presenta actividad Antibacteriana halo de inhibición (30mm)	Naranja valenciana	No presenta actividad
<i>Shigella spp</i>	<i>Salmonella Shigella Agar</i>	Naranja agria	Presenta actividad Antibacteriana halo de inhibición (16mm)	Naranja valenciana	No presenta actividad

La Tabla 22 presenta un resumen detallado de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales extraídos de naranja agria (*Citrus aurantium*) y naranja valenciana (*Citrus sinensis*) frente a cuatro tipos de bacterias: *Bacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, y *Shigella spp.*. Las muestras fueron analizadas en medios de cultivo específicos para cada bacteria, utilizando el método de antibiograma, donde se mide el halo de inhibición como indicador de la efectividad antimicrobiana.

Donde, el aceite esencial de naranja agria presenta actividad significativa contra todas las bacterias evaluadas, con halos de inhibición que varían entre 16 mm (*Shigella spp.*) y 30 mm (*Bacillus spp.* y *Staphylococcus aureus*), por lo cual, el aceite contiene compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas. En el aceite de naranja valenciana no se detectó actividad antimicrobiana en ninguna de las bacterias analizadas, por tanto, indica que el aceite esencial de esta variedad tiene una baja o nula concentración de compuestos con capacidad antimicrobiana, al menos bajo las condiciones experimentales de este estudio.

Figura 15

Siembra de la bacteria Shigella spp. con discos impregnados de aceites esenciales de diferentes variedades de naranja



Nota. Se evidencia que el halo de inhibición generado por el aceite esencial de la naranja agria es significativamente mayor en comparación con el producido por el aceite esencial de la naranja valenciana.

Se destaca que el aceite esencial de la naranja agria presenta halos de inhibición más grandes en bacterias que son gram positivo, como es el caso de *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*, en contraste, con las bacterias gram negativa, en las cuales si presenta inhibición pero en menor medida.

Los factores que pudieron haber influido en esta investigación están relacionados con las características individuales de cada tipo de naranja; según Almache & Villacres (2021), el pH de *Citrus sinensis* y *Citrus aurantium* fue de 3,89 y 3,67, respectivamente, lo que indica que la naranja agria es más ácida, asimismo, los

sólidos solubles totales ($^{\circ}$ Brix) fueron de 9,40 y 8,30, lo que indica que la naranja agria es menos dulce, además, el índice de madurez fue de 6,43 en *C. sinensis* y 5,35 en *C. aurantium*, lo cual influye en los parámetros mencionados anteriormente.

De igual manera, Jiménez et al. (2022), mencionan que el efecto antibacteriano del aceite esencial varía según la etapa de maduración de la fruta, en este sentido, los altos contenidos de polifenoles (Flavonoides, flavonas, isoflavonas) serían los principales responsables de su actividad antibacteriana, de igual manera, según Dongre et al. (2023), esta actividad antibacteriana se debe principalmente a la presencia del limoneno, linalol y eugenol.

De acuerdo con la investigación de Rojas (2022), la variedad *Citrus aurantium* presenta un notable grado de inhibición frente a diversos organismos, en particular, se destaca que a una concentración de 0,8 μ L/mL, muestra una alta efectividad inhibiendo el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y moderada para el resto de microorganismos.

Tabla 23

Halos de inhibición obtenidos para distintos microorganismos utilizando aceite esencial de naranja.

Nombre común y científico	Actividad	Organismo inhibido	Concentración de aceite esencial	Resultado: Diámetro de zona de inhibición (mm)
Naranja (<i>Citrus aurantium</i>)	Antibacteriana	<i>Escherichia coli</i>	0,8 μ L / mL	15
		<i>Staphylococcus aureus</i>	0,8 μ L / mL	16
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,8 μ L / mL	14
		<i>Bacillus cereus</i>	0,8 μ L / mL	15
		<i>Micrococcus luteus</i>	0,8 μ L / mL	14
		<i>Proteus vulgaris</i>	0,8 μ L / mL	15
		<i>Mycobacterium smegmatis</i>	0,8 μ L / mL	14
		<i>Listeria monocytogenes</i>	0,8 μ L / mL	15
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,8 μ L / mL	11

Fuente: (Rojas, 2022)

La investigación de Abud et al. (2021), evaluó la acción bactericida de aceites esenciales diluidos a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% frente a *E. coli* y *Staphylococcus aureus* utilizando el método de disco - placa. Los resultados mostraron que, a una concentración del 100%, los aceites esenciales tuvieron mayor efectividad, con halos inhibitorios promedio de 15 mm, 13 mm y 20 mm para *E. coli* y 16 mm, 14 mm y 20 mm para *S. aureus*. A una concentración del 75%, se observaron halos de menor tamaño (12 mm, 10 mm y 13 mm para *E. coli*; 14 mm, 13 mm y 15 mm para *S. aureus*). Por el contrario, las concentraciones del 50% y 25% no mostraron actividad bactericida frente a ninguna de las cepas analizadas.

Por tanto, se destaca que la eficacia de los aceites esenciales depende directamente de su concentración, siendo necesaria una mayor concentración para lograr una acción bactericida significativa.

4.1.4. Concentración mínima inhibitoria del mejor tratamiento mediante E-test

A continuación, se presenta, la tabla con los resultados de la concentración mínima inhibitoria (CMI) evaluada por el método E-test en cuatro bacterias (*Bacillus spp.*, *Escherichia coli*, *Shigella spp.*, *Staphylococcus aureus*). Las bacterias fueron tratadas con dos antibióticos diferentes, Ceftriaxona y Amoxicilina, a diversas concentraciones, y se midió el halo de inhibición en milímetros (mm) como indicador de efectividad antimicrobiana.

Tabla 24

Concentración mínima inhibitoria del mejor tratamiento mediante E- test

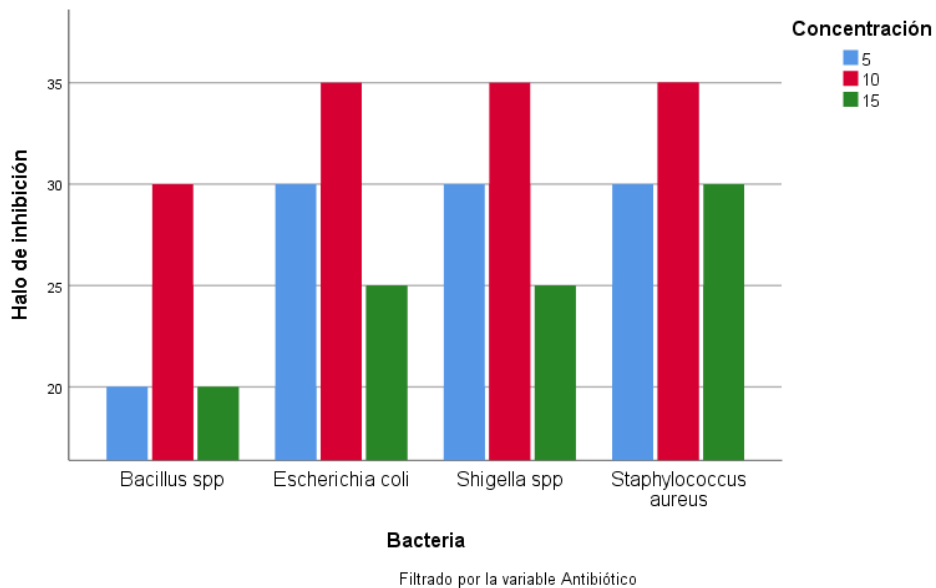
Bacterias	Muestra 1	Halo de inhibición	Antibiótico	Muestra 2	Halo de inhibición	Antibiótico
<i>Bacillus spp</i>	5 ug	20 mm	Ceftriaxona	15 ug	20 mm	Amoxicilina
	10 ug	25 mm		10 ug	30 mm	
	15 ug	20 mm		5 ug	20 mm	
<i>Escherichia coli.</i>	Muestra 1	Halo de inhibición	Antibiótico	Muestra 2	Halo de inhibición	Antibiótico
	5 ug	20 mm	Ceftriaxona	15 ug	30 mm	Amoxicilina
	10 ug	30 mm		10 ug	35 mm	
15 ug	25 mm	5 ug		25 mm		
<i>Shigella spp.</i>	Muestra 1	Halo de inhibición	Antibiótico	Muestra 2	Halo de inhibición	Antibiótico
	5 ug	20 mm	Ceftriaxona	15 ug	30 mm	Amoxicilina
	10 ug	30 mm		10 ug	35 mm	
15 ug	25 mm	5 ug		25 mm		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Muestra 1	Halo de inhibición	Antibiótico	Muestra 2	Halo de inhibición	Antibiótico
	5 ug	25 mm	Ceftriaxona	15 ug	30 mm	Amoxicilina
	10 ug	35 mm		10 ug	35 mm	
15 ug	25 mm	5 ug		25 mm		

Los resultados obtenidos en la evaluación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método E-test muestran que Amoxicilina presenta una mayor efectividad antimicrobiana en comparación con Ceftriaxona para las bacterias *Bacillus spp.*, *Escherichia coli*, y *Shigella spp.*, mientras que ambas presentaron una efectividad comparable frente a *Staphylococcus aureus*. La mayor susceptibilidad fue registrada en *Staphylococcus aureus* y *Shigella spp.*, donde se alcanzaron halos

de hasta 35 mm, mientras que *Bacillus spp.* mostró una menor susceptibilidad, con un halo máximo de 30 mm; por tanto, la amoxicilina es una opción más efectiva para el tratamiento de estas bacterias.

Figura 16

Barras agrupadas de Halo de inhibición por Bacteria por Concentración



Se observó que la concentración de antibiótico de 10 µg generó un halo de inhibición más grande en las cuatro cepas bacterianas en comparación con la concentración de 15 µg, que mostró halos de menor tamaño. La bacteria que presentó la menor resistencia al antibiótico fue *Staphylococcus aureus*, en contraste con *Bacillus spp* exhibió los halos más pequeños. Se destaca que la ceftriaxona es más eficaz contra bacterias gramnegativas, mientras que la amoxicilina es más eficaz contra bacterias grampositivas (Guz et al., 2023)

Figura 17

Siembra en placa método E-test



Nota. Se observa la siembra de los microorganismos de interés y su respuesta frente a los diferentes antibióticos evaluados

En el estudio de la eficacia de antibióticos frente a diversas bacterias realizado por Fuentala (2024), se observó que *E. coli* mostró resistencia a amoxicilina, con halos inhibitorios pequeños en las muestras; en cambio, ceftriaxona destacó por su alta eficacia, mostrando una sensibilidad del 100% contra esta bacteria. Para *Staphylococcus spp.*, la amoxicilina presentó una sensibilidad del 50%, mientras que en el caso de *Bacillus*, también mostró una resistencia total, sin actividad antimicrobiana detectable. Por tanto, Amoxicilina presentó menor eficacia en todos los casos, destacándose su resistencia frente a *Bacillus*, así como una menor sensibilidad frente a *Staphylococcus spp.*, por otro lado, ceftriaxona resultó ser uno de los antibióticos más efectivos, frente a *E. coli* y *Staphylococcus spp.*.

4.2. COMPROBACIÓN DE LAS HIPÓTESIS

Para evaluar las hipótesis planteadas, se realizaron análisis estadísticos sobre la actividad antioxidante y antimicrobiana de los aceites esenciales obtenidos de la corteza de naranja variedad valenciana (*Citrus sinensis*) y naranja agria (*Citrus aurantium*).

Actividad antioxidante:

Se verificó la influencia de la variedad de naranja y del efecto antioxidante sobre la capacidad antioxidante, utilizando el análisis de varianza (ANOVA); los resultados mostraron que tanto la variedad de naranja ($F = 1955,42$; $p = 0,0000$) como el efecto antioxidante ($F = 1395,31$; $p = 0,0000$) tuvieron un impacto significativo en la capacidad antioxidante. Además, la interacción entre ambos factores también fue significativa ($F = 340,96$; $p = 0,0000$). A través de las pruebas de Múltiple Rangos, se observó que la variedad de naranja valenciana presentó una capacidad antioxidante significativamente superior a la de la naranja agria, con medias de 312,64 y 113,9, respectivamente (Tabla 15). Asimismo, el efecto antioxidante ABTS mostró una mayor capacidad en comparación con el FRAP, con medias de 297,21 y 129,33 (Tabla 16).

Actividad antimicrobiana:

En el análisis de la actividad antimicrobiana, se encontró que tanto la variedad de naranja como el efecto antimicrobiano influyeron significativamente en el tamaño del halo de inhibición ($F = 11907,00$; $p = 0,0000$ para la variedad de naranja y $F = 256,33$; $p = 0,0000$ para el efecto antimicrobiano). En cuanto a la interacción, se evidenció también una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,0000$). Según las pruebas de Múltiple Rangos, la naranja agria mostró una mayor actividad antimicrobiana en comparación con la naranja valenciana (Tabla 20). En relación con los efectos antimicrobianos, las bacterias *Shigella*, *E. coli*, *Staphylococcus* y *Bacillus* fueron afectadas significativamente por el aceite esencial, con diferencias entre los tamaños de halo de inhibición (Tabla 21).

Por consiguiente, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, confirmando que el aceite esencial obtenido de la corteza de naranja variedad valenciana y naranja agria influye de manera significativa en la actividad antioxidante y antimicrobiana.

CAPITULO V

5.1.CONCLUSIONES

- Se logró extraer aceite esencial a partir de cáscaras de naranja agria y valenciana mediante arrastre de vapor, obteniendo un rendimiento del 1,25% en ambos casos. El proceso mostró diferencias en las temperaturas iniciales de condensación: 10°C y 23°C para las cáscaras de naranja agria y valenciana, respectivamente, lo que indica una mayor volatilidad de los compuestos en la cáscara de naranja agria; Este rendimiento muestra que ambos tipos de cáscara son adecuados para la extracción de aceite esencial bajo estas condiciones experimentales.
- El método ABTS detectó una capacidad antioxidante significativamente mayor en el aceite de naranja valenciana (438,08 $\mu\text{mol ET/L}$) que en el aceite de naranja agria (156,35 $\mu\text{mol ET/L}$). Por su parte, el método FRAP mostró valores inferiores, pero también evidenció la superioridad antioxidante del aceite de naranja valenciana (187,21 $\mu\text{mol ET/L}$ frente a 71,45 $\mu\text{mol ET/L}$). Esto confirma que los compuestos bioactivos antioxidantes están presentes en mayor proporción en la naranja valenciana y que el método ABTS es más sensible para la detección de antioxidantes.
- El aceite esencial de naranja agria presentó una actividad antimicrobiana significativa contra las cuatro bacterias evaluadas, con halos de inhibición que oscilaron entre 16 mm (*Shigella spp.*) y 30 mm (*Bacillus spp.* y *Staphylococcus aureus*). En contraste, el aceite de naranja valenciana no mostró actividad antimicrobiana bajo las condiciones del estudio, lo que indica diferencias en la concentración y tipo de compuestos bioactivos entre las variedades, por tanto, se resalta el potencial del aceite de naranja agria como un agente antimicrobiano natural.
- La amoxicilina mostró una mayor efectividad antimicrobiana frente a *Bacillus spp.*, *Escherichia coli*, y *Shigella spp.*, con halos de inhibición máximos de 35 mm en concentraciones de 10 μg . Ambas opciones de antibiótico presentaron una efectividad comparable frente a *Staphylococcus aureus*, por tanto, la

amoxicilina es una alternativa eficiente para el tratamiento de infecciones bacterianas específicas.

5.2. RECOMENDACIONES

- Optimizar las condiciones del proceso, como el tiempo de extracción, la relación materia prima/solvente, y la temperatura de condensación, para maximizar el rendimiento del aceite esencial.
- Realizar análisis cromatográficos (HPLC o GC-MS) para identificar y cuantificar los compuestos responsables de la actividad antioxidante y antimicrobiana, con el fin de relacionar directamente los compuestos bioactivos con los resultados obtenidos.
- Se recomienda llevar a cabo estudios adicionales con un rango más amplio de concentraciones del aceite esencial de *Citrus sinensis* con el objetivo de determinar si su actividad antimicrobiana es dependiente de la concentración. Esto se debe a que, en las concentraciones previamente evaluadas, no se observó un efecto antimicrobiano significativo.
- Considerar medir los halos de inhibición en diferentes tiempos (12, 24, 48 horas) para evaluar cómo varía la efectividad de los antibióticos con el tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abud, M., Gutiérrez, E., Guevara, I., & Barillas, R. (2021). Acción bactericida del aceite esencial de semillas *Citrus aurantium*, *C. sinensis*, *C. reticulata*. *Revista Científica de FAREM-Esteli*, 40, 118–134. <https://doi.org/10.5377/farem.v10i40.13049>
- Alarcon, A., Mora, J., Cabrera, D., & Garcia, F. (2022). Estudio comparativo de la composición química, fenoles totales y actividad antioxidante de *Citrus* síntesis, *Citrus reticulata* y *Citrus máxima*. *RECIAMUC*, 6(3), 535–545. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.535-545](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.535-545)
- Alfonso, J., Balmori, D., Benitez, S., Franco, B., Escobar, J., Miranda, R., & López, L. (2023). Árboles frutales para fortalecer la Seguridad Alimentaria del Asentamiento Santa Librada de la ciudad de Limpio. *Revista Multidisciplinaria UP*, 3(2), 58–77. https://www.upacifico.edu.py:8043/index.php/Rev_MUP/article/view/315
- Alippi, A., Reynaldi, F., & López, A. (2023). Evaluación del método epsilométrico Etest para la determinación de la sensibilidad a tetraciclina en *Paenibacillus larvae*, agente causal de la loque americana de las abejas. *Revista Argentina de Microbiología*, 45(4), 257–261. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(13\)70033-6](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(13)70033-6)
- Almache, M., & Villacres, A. (2021). *Evaluación de los parámetros de calidad en dos variedades de naranja, valencia (Citrus x sinensis) y naranja agria (Citrus x aurantium) para la elaboración de jugo* [Grado, Universidad Técnica de Cotopaxi]. <https://repositorio.utc.edu.ec/items/8494e5f0-9da7-43ae-ab97-4f3405561bac>
- Arévalo, G., & Castillo, R. (2023). *Actividad antioxidante y antiinflamatoria In vitro de Cannabis no Psicoactivo y su uso en el tratamiento paliativo de enfermedades. Universidad Estatal de Bolívar. periodo enero abril 2023* [Tesis de Grado, Universidad Estatal de Bolívar]. <https://dspace.ueb.edu.ec/items/3901b0dd-407f-409e-907b-5c27dcd2cd30>

- Armijos, A. (2023). *Diseño de un proceso industrial para la obtención de un plástico biodegradable a partir de la cáscara de banano (Musa paradisiaca) para la empresa ROLDEG S.A. ECUADOR* [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/20364>
- Aucatoma, D., & Santillan, N. (2023). *Aprovechamiento de residuos biomásicos del limón (Citrus limon), en la obtención de aceites esenciales, para la elaboración de productos agroindustriales en la provincia Bolívar* [Tesis de Pregrado, Universidad Estatal de Bolívar]. <https://dspace.ueb.edu.ec/items/18e699ef-c9d6-416a-a5fd-e5136915cdd0>
- Becerra, L., Ronquillo, R., Olvera, M., & Plaza, J. (2020). Validación del método analítico mediante el uso cepas específicas de Escherichia coli y Staphylococcus aureus en el laboratorio de microbiología de una empresa alimenticia. *Revista Científica Aristas*, 2(1), 43–60. https://revistacientificaistjba.edu.ec/images/home/documentos/Mayo_2020/Edicion_Mayo_2020_COMPLETO-c.pdf#page=44
- Bhatia, L., Jha, H., Sarkar, T., & Sarangi, P. K. (2023). Food waste utilization for reducing carbon footprints towards sustainable and cleaner environment: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(3), 2318. <https://doi.org/10.3390/ijerph20032318>
- Biolife. (2021, July). *Chromogenic Bacillus Cereus Agar*. Istruzioni per l'uso . <https://www.biolfecromogeni.it/wp-content/uploads/2022/02/ST-4240072.pdf>
- Castillo, C. (2020). *Extracción de aceites esenciales de los residuos de las cáscaras de naranja (Citrus sinensis L.), mandarina (Citrus reticulata) y limón (Citrus aurantifolia Swingle) para su uso como aditivo en la elaboración de un jabón artesanal* [Tesis de Pregrado, Universidad Católica de Santiago de Guayaquil]. <http://repositorio.ucsg.edu.ec/handle/3317/15263>

- Caycedo, L., Corrales, L., & Trujillo, D. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36), 49–94. <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>
- Chagua, M. (2024). Técnicas de extracción, actividad biológica, y aplicación alimentaria del aceite esencial de muña: Revisión sistemática. *KANYÚ*, 2(3), 12–29. <https://revistas.unaat.edu.pe/index.php/kanyu/article/view/117>
- Civallero, E., Piche, G., & Rodríguez, H. (2021). *Análisis técnico-ambiental de las diferentes alternativas de valorización de lodos procedentes de la destilación simple de solventes utilizados para el lavado de equipo, en la fabricación de pinturas base solvente* [Tesis de Pregrado, Universidad del Salvador]. <https://repositorio.ues.edu.sv/items/dcd7839d-9c9e-469f-b639-b0490ea8da4b>
- Cueva, O. (2022). *Caracterización de bacterias de suelos impactados por lixiviados del relleno sanitario Cajamarca* [Universidad Nacional de Cajamarca]. <http://hdl.handle.net/20.500.14074/4979>
- Cuzco, G. (2020). *Evaluación del rendimiento extractivo del aceite esencial de los frutos y hojas de la pimienta gorda (Pimenta dioica (L.) Merrill.), cultivada en la región norte de Guatemala, mediante técnica de destilación por arrastre con vapor a escala y planta piloto y su caracterización fisicoquímica* [Tesis]. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Denamur, E., Clermont, O., Bonacorsi, S., & Gordon, D. (2021). The population genetics of pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 19(1), 37–54. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0416-x>
- Díaz, V. (2020). *Determinación de los parámetros óptimos de extracción de aceites esenciales a partir de subproductos del jugo de naranja (citrus sinensis l.) y su efecto conservante en papillas de cereales* [Universidad Nacional de Callao]. <https://hdl.handle.net/20.500.12952/6745>

- Dongre, P., Doifode, C., Choudhary, S., & Sharma, N. (2023). “Botanical description, chemical composition, traditional uses and pharmacology of Citrus sinensis: An updated review.” *Pharmacological Research - Modern Chinese Medicine*, 8, 100272. <https://doi.org/10.1016/j.prmcm.2023.100272>
- Doseděl, M., Jirkovský, E., Macáková, K., Krčmová, L., Javorská, L., Pourová, J., Micolini, L., Remião, F., Nováková, L., & Mladěnka, P. (2021). Vitamin C— Sources, Physiological Role, Kinetics, Deficiency, Use, Toxicity, and Determination. *Nutrients*, 13(2), 615. <https://doi.org/10.3390/nu13020615>
- Drummond, T., Rodríguez, B., Galíndez, M., & Stanchieri, M. (2022). Lectura interpretada del antibiograma. *Gaceta Médica de Caracas*, 130(Supl. 4), S856–S866. <https://doi.org/10.47307/GMC.2022.130.s4.9>
- Duarte, A., Jiménez, J., Pineda, J., González, C., & García, M. (2020). Extracción de sustancias bioactivas de *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) por maceración dinámica. *Acta Biológica Colombiana*, 25(1), 61–74. <https://doi.org/10.15446/abc.v25n1.72409>
- Dueñas, C., Quintana, L., Quintero, I., Garcerant, I., Ramos, Y., Ramírez, A., Barreto, I., Coronel, W., Parodi, Y., & Henao, L. (2021). Lectura interpretada de antibiograma: un enfoque basado en preguntas. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo*, 21(3), 252–262. <https://doi.org/10.1016/j.acci.2020.09.006>
- Enríquez, M. (2021). Evaluation of the antioxidant capacity and phenolic content of the essential oil of dry and humid leaves of Guaviduca (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.). *Semiárida: Revista de La Facultad de Agronomía UNLPam*, 31(1), 9–15. [https://doi.org/10.19137/semiarida.2021\(01\).09-15](https://doi.org/10.19137/semiarida.2021(01).09-15)
- Enríquez, M., Villafuerte, F., & Figueroa, A. (2023). Efectos de los componentes bioactivos de frutas, vegetales, lácteos y plantas medicinales en la nutrición humana. *Revista de Ciencias Agropecuarias ALLPA*, 6(11), 2–24. <https://doi.org/10.56124/allpa.v6i11.0055>

- Entonado, R. (2022). *Conserva de naranja (Citrus sinensis) variedad tangelo en almíbar* [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional San Luis Gonzaga]. <https://hdl.handle.net/20.500.13028/3990>
- Franco, E., & Acuña, A. (2023). Capacidad Antioxidante con Técnicas Espectrofotométricas. In E. Franco (Ed.), *Manual de Prácticas de Laboratorio Capacidad Antioxidante* (1st ed.). Universidad de Guadalajara Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías. https://www.researchgate.net/profile/Rocio-Lopez-Roa/publication/371371782_Manual_de_Practicas_de_Laboratorio/links/648118db79a7223765170b1d/Manual-de-Practicas-de-Laboratorio.pdf#page=51
- Fuentala, J. (2024). *Estudio de la resistencia antibiótica de los agentes bacterianos en cuyes en las granjas en la provincia de Cotopaxi*. [Universidad Técnica de Cotopaxi]. <https://repositorio.utc.edu.ec/items/e7beea00-8c30-4758-aa97-766a693b3ed9>
- Gamarra, C. (2022). *Diseño de una planta productora de aceite esencial a partir de la cáscara de naranja para exportación* [Tesis de Pregrado, Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo]. <http://hdl.handle.net/20.500.12423/5478>
- Gonzales, D., & Pérez, D. (2023). *Optimización del tiempo y temperatura de infusión de berros y naranja en el contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante* [Universidad Nacional del Centro del Perú]. <http://hdl.handle.net/20.500.12894/9312>
- Granda, J. (2021). *La producción de cítricos y su incidencia en las exportaciones de frutas no tradicionales en el Ecuador* [Tesis de Pregrado, Universidad Agraria del Ecuador]. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/GRANDA%20JARAMILLO%20JOYC E.pdf>

- Grasso, A., & Díaz-Zorita, M. (2020). *Manual de buenas prácticas de manejo de fertilización* (2nd ed.). Fertilizar Asociación Civil. https://www.fertilizar.org.ar/subida/BMPN/BPMN_Fertilizar102018.pdf
- Guz, D., Bracha, M., Steinberg, Y., Kozlovsky, D., Gafter-Gvili, A., & Avni, T. (2023). Ceftriaxone versus ampicillin for the treatment of community-acquired pneumonia. A propensity matched cohort study. *Clinical Microbiology and Infection*, 29(1), 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.07.022>
- Hernández-Amasifuen, A., Pineda-Lázaro, A., & Díaz-Pillasca, H. (2021). Micropropagación in vitro de naranja agria (*Citrus aurantium* L.) a partir de segmentos nodales. *Bionatura*, 6(4), 2216–2221. <https://doi.org/10.21931/RB/2021.06.04.13>
- Hernández-Cruz, E., & Pedraza-Chaverri, J. (2022). Deficiencia de vitamina D y estrés oxidante y enfermedad. *Tequio*, 5(15), 41–52. https://www.researchgate.net/profile/Estefani-Yaquelin-Hernandez-Cruz-2/publication/364011475_Deficiencia_de_vitamina_D_estres_oxidante_y_enfermedad/links/6426eade66f8522c38e9239b/Deficiencia-de-vitamina-D-estres-oxidante-y-enfermedad.pdf
- Higueras, C. (2024). *Metodologías más sostenibles para la determinación de la capacidad antioxidante de residuos agroalimentarios* [Universidad de Jaén]. <https://crea.ujaen.es/handle/10953.1/24332>
- Hinenoya, A., Nagano, K., Okuno, K., Nagita, A., Hatanaka, N., Awasthi, S. P., & Yamasaki, S. (2020). Development of XRM-MacConkey agar selective medium for the isolation of *Escherichia albertii*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 97(1), 115006. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115006>
- Huaraca, R., Delgado, M., & Tapia, F. (2022). Metabolitos bioactivos y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial extraído de dos especies del género *Tagetes*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 50(3). <https://doi.org/10.15446/rcciQUIFA.v50n3.93429>

- Iriarte, D. (2019). *Avances en tecnología de producción y conservación de pulpas de frutas* [Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD]. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/27033>
- Jiménez, W., Zamora, J., Campoverde, J., & Mariscal, W. (2022). Actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de citrus sinensis, citrus paradisis y citrus reticulata. *RECIAMUC*, 6(3), 399–407. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.399-407](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.399-407)
- Jung, B., & Hoilat, G. (2024, September 10). *MacConkey Medium*. National Library of Medicine. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557394/>
- Jurado, H., Mallama, A., & Martínez, J. (2022). *Microbiología aplicada a la producción animal* (2nd ed.). Universidad de Nariño. https://sired.udenar.edu.co/7657/1/Microbiologia%20aplicada%20a%20la%20producci%C3%B3n%20animal__Diagramaci%C3%B3n%20DIGITAL%20FINAL.pdf
- León, B. (2023). *Evaluación del Riesgo de Staphylococcus aureus Para la Línea de Producción de Yogurt en la Institución Educativa Bonafont* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Abierta y a Distancia]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/items/3be8e1b9-9fdc-4bc2-92df-ad3edb833274>
- Lim, Y., Hyun, J., & Hwang, C. (2020). Identification of fusidic acid resistance in clinical isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs in Korea. *Veterinary Dermatology*, 31(4), 267. <https://doi.org/10.1111/vde.12844>
- Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., Reeves, P., Knirel, Y., Wang, L., & Widmalm, G. (2020). Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(6), 655–683. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz028>

- López, J. (2020). *Diseño de un sistema de extracción de aceite de Cáñamo para su uso en la industria farmacéutica y cosmética* [Tesis de Grado, Universitat Politècnica de València]. <https://riunet.upv.es/handle/10251/163467>
- López, T. (2022). *Impacto del uso de fertilizantes químicos en la producción del cultivo de naranja (Citrus sinensis L.)* [Universidad Técnica de Babahoyo]. <https://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/11317>
- MacLennan, C., Grow, S., Ma, L., & Steele, A. (2022). The Shigella Vaccines Pipeline. *Vaccines*, 10(9), 1376. <https://doi.org/10.3390/vaccines10091376>
- Martínez, J. (2020). *Composición química y actividad antioxidante de los aceites esenciales de Mentha longifolia y Mentha x piperita* [Universitat Politècnica de València]. <https://riunet.upv.es/handle/10251/133876>
- Martínez-Alemán, S. R., Hernández-Castillo, F. D., Aguilar-González, C. N., & Rodríguez-Herrera, R. (2019). Extractos de pulpa de café: Una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana. *Investigación y Ciencia de La Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 27(77), 73–79. <https://doi.org/10.33064/iycuaa2019772124>
- Mayo, E., & Días, G. (2023). *Extracción de aceites esenciales de la cáscara de naranja dulce (Citrus Sinensis. L Osbeck) mediante pulsos de vapor* [Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios]. <http://hdl.handle.net/20.500.14070/993>
- Mendoza-Espinoza, J., Ramírez, Z., Sierra-Palacios, E., Chávez-Baeza, C., Gómez-Cansino, R., Bustamante-Camilo, P., & Díaz, F. (2022). Obtención de bioetanol y caracterización química de la cáscara de naranja Valencia cultivada en Ríoverde, San Luis Potosí-México. *Ciencias Agronómicas*, 39, e017. <https://doi.org/10.35305/agro39.e017>
- Monsalve, D. (2022). *Estudio de la resistencia a antibióticos en infecciones oculares por Staphylococcus y Pseudomonas* [Trabajo Fin de Grado , Universidad de Sevilla]. <https://hdl.handle.net/11441/143388>

- Montero-Recalde, M., Morocho-Núñez, M., Avilés-Esquivel, D., Carrasco-Cando, Á., & Erazo-Gutierrez, R. (2019). Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus* spp) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 30(2), 932–938. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i2.16099>
- Montoya, E., & Luna, L. (2022). *Actividad biológica de los grupos de metabolitos secundarios presentes en los pteridofitos Goniopteris stolzeana (AR Sm.) Salino y TE Almeida y Adiantum amplum C. Presl.* [Tesis de licenciatura, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas]. <https://repositorio.unicach.mx/handle/20.500.12753/4417?show=full>
- Mora, J., Cabrera, D., Alarcon, A., & Garcia, F. (2022). Estudio comparativo de polifenoles o fenoles totales y actividad antioxidante de la cascara citrus sínensis. *RECIAMUC*, 6(3), 459–469. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.459-469](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.459-469)
- Morales, J. (2021). *Identificación de bacterias patógenas en manos de estudiantes de gastronomía de una universidad pública* [Tesis de Pregrado, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/15275>
- Moreta, M. (2022, July). *Ecuador: Cuatro cantones de Bolívar cultivan el 21% de naranjas que consume el país*. El Productor.
- Moya, E. (2021). *Obtención de carbón activo a partir de la cascara de naranja (Citrus sinensis Linn Osbeck) para la remoción de cadmio a nivel de laboratorio* [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/16922>
- Murillo, E., & Pullupaxi, L. (2019). *Aislamiento e Identificación de Microorganismos Fermentadores de una Bebida Ancestral fermentada (chicha) a partir de Chonta (bactris gasipaes h.b.k)*. Universidad Técnica de Cotopaxi.

- Navarrete, N., Pita-Ospina, E., Sánchez., R., Giraldo, S., & Bernal, M. (2020). Actividad in vitro de los extractos etanólicos de *Lantana camara* L., *Petiveria alliacea* L. y *Lippia dulcis* T. frente a bacterias patógenas. *Nova*, 18(33), 53–71. <https://doi.org/10.22490/24629448.3700>
- Neyaz, L., Alghamdi, H., Alghashmari, R., Alswat, S., Almaghrabi, R., Bazaid, F., Albarakaty, F., Elbanna, K., & Abulreesh, H. (2024). A comprehensive review on the current status of culture media for routine standardized isolation of *Salmonella* and *Shigella* spp. from contaminated food. *Journal of Umm Al-Qura University for Applied Sciences*. <https://doi.org/10.1007/s43994-024-00205-2>
- Ortiz, R., Araujo, J., Centeno, G., & Chuc, M. (2023). Las cáscaras de naranja: ¿Desechos de la agricultura o riqueza farmacéutica? *Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C*, 15, 160–164.
- Orús, A. (2024, December 23). *Volumen de naranjas producidas al año en el mundo desde 2011 hasta 2023*. Statista. <https://es.statista.com/estadisticas/508983/produccion-mundial-de-naranjas/>
- Parra, J. (2020). *Estudio de prefactibilidad para la empresa provegcol, en el aprovechamiento de residuos de naranja para la producción de pulverizado de cáscara de naranja* [Tesis de Pregrado, Universidad Antonio Nariño]. <https://repositorio.uan.edu.co/server/api/core/bitstreams/fa397366-60ab-4aeb-a1c8-b134587eb58a/content>
- Paucarchuco, J., Torres, E., Javier, H., & Vilchez, J. (2023). Aceites esenciales: Interés agroindustrial por los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de plantas aromáticas. *Advances in Science and Innovation*, 2(2), 10–19. <https://doi.org/10.61210/asi.v2i2.65>
- Peña, L., & Guasca, Y. (2023). *Método de destilación simple para caracterización de aceites vegetales y combustibles líquidos* [Tesis de Pregrado, Universidad ECCI]. <https://repositorio.ecci.edu.co/handle/001/3480>

- Pilco, G. (2020). *Flavedo deshidratado de naranja (Citrus sinensis, variedad Valencia) y hojas de stevia (Stevia rebaudiana) para la elaboración de infusión cítrica* [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/items/3be8e1b9-9fdc-4bc2-92df-ad3edb833274>
- Pupiales, S., & Torres, T. (2024). *Obtención de aceites esenciales a partir de pino (Pinus), eucalipto (Eucalyptus), menta (Mentha), caléndula (Caléndula officinalis), y su aplicación en la elaboración de una crema con fines terapéuticos*. Universidad Estatal de Bolívar.
- Rojas, M. (2022). *Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de plantas* [Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/items/466d2513-7857-4385-bdd8-4aa17e291a9c>
- Sánchez, M. (2024). *Estudio de microorganismos patógenos transmitidos por alimentos de origen vegetal y su resistencia a antimicrobianos* [Tesis de Fin de Máster, Universidad de Jaén]. <https://crea.ujaen.es/handle/10953.1/21425>
- Sarabia, C. (2023). *Biocarbón de cáscara de naranja para la remoción de ZN en aguas de posibles relaves mineros* [Tesis de Pregrado, Fundación Universitaria del Área Andina]. <https://digitk.areandina.edu.co/entities/publication/067b0ac4-ce69-44f4-93e4-3ad184113a3c>
- Sari, Z., & Febriawan, R. (2021). Perbedaan Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Metode Well Diffusion dan Kirby Bauer Terhadap Pertumbuhan Bakteri. *Jurnal Medika Hutama*, 2(4), 1156–1162. <http://www.jurnalmedikahutama.com/index.php/JMH/article/view/241/160>
- Segovia, E., Varela, M., Torres, E., & Gonzales, B. (2022). Producción y comercialización de naranja (Citrus sinensis L.): Caso cantón Caluma, provincia de Bolívar, Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 15(2), 1–6. <https://doi.org/10.18779/cyt.v15i2.573>

- Sosa, M. (2023). *Nuevos fotosensibilizadores lipofílicos: síntesis, caracterización y estudio de sus propiedades fotoquímicas y fotosensibilización de membranas lipídicas* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/157213>
- Stampella, P. (2021). *Historia local de naranja amarga (Citrus × Aurantium L., Rutaceae) del viejo mundo asilvestrada en el corredor de las antiguas misiones jesuíticas de la provincia de Misiones (Argentina) Caracterización desde una perspectiva interdisciplinaria* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de La Plata]. <https://doi.org/10.35537/10915/44653>
- Suarez, M. (2023). *Comercialización del cultivo de naranja (Citrus sinensis, L) en el Ecuador* [Universidad Técnica de Babahoyo]. <https://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/14975>
- Supriatin, Y., Sumirat, V., & Herdiani, M. (2021). Growth Analysis of Escherichia coli and Salmonella typhi on MacConkey Agar Modification. *Journal of Physics: Conference Series*, 1764(1), 012207. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1764/1/012207>
- Tardío, J., Pardo, M., Lázaro, A., Aceituno, L., & Molina, M. (2022). *Inventario español de los conocimientos tradicionales relativos a la biodiversidad agrícola* (2nd ed.). Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. https://www.mapa.gob.es/images/es/tardio_et al2022_iectbavol2_tcm30-640207.pdf
- Torraca, V., Holt, K., & Mostowy, S. (2020). Shigella sonnei. *Trends in Microbiology*, 28(8), 696–697. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.02.011>
- Tránsito, M., & López, L. (2024). Los aceites esenciales. Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *Offarm: Farmacia y Sociedad*, 23(7), 88–91.
- Vela, R. (2022). *Efecto antibacteriano in vitro de la mezcla del aceite esencial de Origanum vulgare (Orégano) y Rosmarinus officinalis (Romero) frente a*

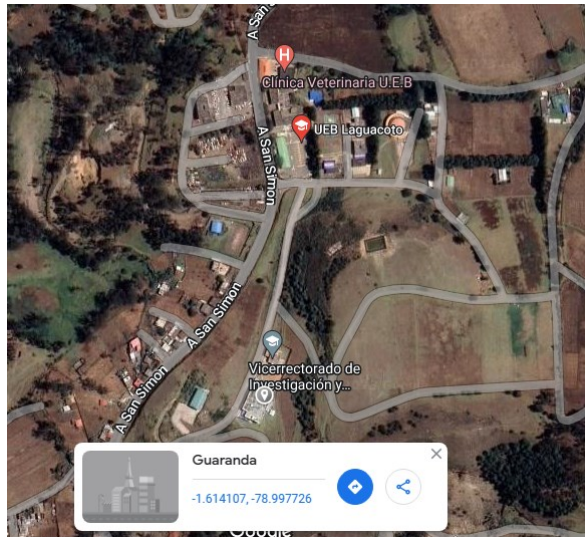
Staphylococcus aureus y *Escherichia coli* [Tesis Pregrado, Universidad Alas Peruanas]. <https://hdl.handle.net/20.500.12990/9916>

Yesigat, T., Jemal, M., & Birhan, W. (2020). Prevalence and Associated Risk Factors of Salmonella, Shigella, and Intestinal Parasites among Food Handlers in Motta Town, North West Ethiopia. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2020, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/6425946>

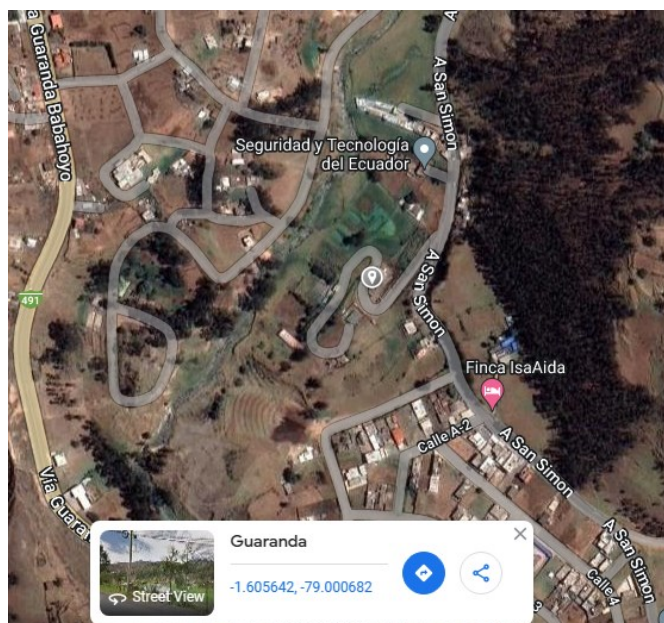
ANEXOS

Anexo 1

Mapa de ubicación de la investigación



Nota. Mapa y coordenadas del laboratorio de vinculación de la UEB. Toma de la ubicación mediante “Google Maps”



Nota. Mapa y coordenadas del laboratorio general de la UEB. Toma de la ubicación mediante “Google Maps”

Anexo 2

Cronograma de actividades

		AÑO 2024 – MES																			
		FASE LABORATORIO - CAMPO																			
		Mes 6				Mes 7				Mes 8				Mes 9				Mes 10			
Actividad	Detalle	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Objetivo 1	<ul style="list-style-type: none"> Extraer el aceite de la corteza de la naranja por destilación simple. 																				
Objetivo 2	<ul style="list-style-type: none"> Estudiar la capacidad antioxidante del aceite obtenido. 																				
Objetivo 3	<ul style="list-style-type: none"> Determinar el efecto microbiano del aceite en cuatro cepas de bacterias (<i>E. coli</i>, <i>Shigella</i>, <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Bacillus</i>). 																				
Objetivo 4	<ul style="list-style-type: none"> Evaluar la concentración mínima inhibitoria del mejor tratamiento. 																				

Anexo 3

Presupuesto de anteproyecto

AÑO 2024 – MES																						
PRESUPUESTO DEL PROYECTO																						
			Mes 6				Mes 7				Mes 8				Mes 9				Mes 10			
Actividad	Detalle	Monto	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Objetivo 1	Extraer el aceite de la corteza de la naranja por destilación simple.	\$100																				
Objetivo 2	Estudiar la capacidad antioxidante del aceite obtenido.	\$250																				
Objetivo 3	Determinar el efecto microbiano del aceite en cuatro cepas de bacterias (<i>E. coli</i> , <i>Shigella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Bacillus</i>).	\$450																				
Objetivo 4	Evaluar la concentración mínima inhibitoria del mejor tratamiento.	\$350																				
Total, de Inversión		\$1150																				


Anexo 4

Recolección de las materias Primas

<i>Recolección de las Materias Primas</i>						
Nº	Fecha de Recolección	Hora	Código	Peso de la materia Prima	Cantid ad	
Naranja variedad valenciana (<i>citrus sinensis</i>)						
Naranja agria (<i>citrus aurantium</i>)						

Anexo 5

Informes de resultados

 UEB UNIVERSIDAD BOLÍVAR	DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador</small>		Código	IR-AA
		Informe de Resultados	Versión	1	
			Año	2024	
			Página	Página 1 de 1	

INFORME DE ENSAYOS N° 242


DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA					
Solicitante	Sthefany Gaibor; Stalyn Flores				
Muestras	Aceite esencial de naranja valenciana (<i>Citrus sinensis</i>) y Aceite esencial de naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>).				
Código asignado UEB	INV 276, INV 277				
Estado de la muestra	Líquida				
Envase de recepción	Frasco de vidrio con aprox. 10 ml de contenido de muestra				
Análisis requerido(s)	Actividad antioxidante				
Fecha de recepción	07 de octubre de 2024				
Fecha de análisis	07-08 de octubre de 2024				
Fecha de informe	09 de octubre de 2024				
Técnico (s) asignado	MFQM				
RESULTADOS OBTENIDOS					
Código de laboratorio	Muestra	Análisis	Método de análisis	Unidad	Resultado
INV 276	Aceite esencial de naranja valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	Actividad antioxidante	ABTS (Acido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin a)-6- sulfónico)	µmol ET/ l muestra	438,08
INV 277	Aceite esencial de naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)				156,35
INV 276	Aceite esencial de naranja valenciana (<i>Citrus sinensis</i>)	Actividad antioxidante	FRAP (poder antioxidante reductor férrico)	µmol ET/ l muestra	187,21
INV 277	Aceite esencial de naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)				71,45

Los resultados de los análisis corresponden a 3 determinaciones por muestra



Ing. Favian Bayas PhD.
Director DIVIUEB

Nota. Informe de resultados para actividad antioxidante

 VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>	Código	BBM202401
	INFORME DE RESULTADOS DE TESIS	Versión	1
		Año	2024
		Página	1 de 2

INFORME DE ENSAYOS N.º 0249-2024

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Sthefany Simonne Gaibor - Brayan Stalyn Flores
Muestras	Bacterias de interés
Código asignado UEB	INV 249
Estado de la muestra	Solida
Envase de recepción	Tubos eppendorf con muestras bacterianas
Análisis requerido(s)	Análisis de resultados de la actividad antimicrobiana de la tesis denominada: Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial obtenido de la corteza de naranja variedad valenciana (<i>Citrus sinensis</i>) y naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)
Fecha de recepción	1 de noviembre 2024
Fecha de análisis	27 de noviembre de 2024
Fecha de informe	2 de diciembre del 2024
Técnico asignado	SXSJ

Bacterias	Medio de cultivo	Muestra 1	Antibiograma	muestra 2	Antibiograma
<i>Bacillus spp.</i>	Chromogenic bacillus	Naranja agria	Presenta actividad Antibacteriana halo de inhibición (30mm)	Naranja valenciana	No presenta actividad
<i>Escherichia. Coli</i>	MacConkey	Naranja agria	Presenta actividad Antibacteriana halo de inhibición (20mm)	Naranja valenciana	No presenta actividad
<i>Staphylococcus aureus</i>	Manitol salado	Naranja agria	Presenta actividad Antibacteriana halo de inhibición (30mm)	Naranja valenciana	No presenta actividad
<i>Shigella spp</i>	Salmonella Shigella Agar	Naranja agria	Presenta actividad Antibacteriana halo de inhibición (16mm)	Naranja valenciana	No presenta actividad

Nota.

Se realizo los antibiogramas con discos en blanco por cada bacteria de interés.

 <small>Elaborado por el estudiante de grado: SANTIAGO XAVIER SANTOS JARA</small>	 <small>Revisado por el docente de grado: FAVIAN BAYAS MOREJON</small>
Elaborado Ing. Santiago Santos Jara	Revisado Dr. Favian Bayas

Nota. Informe de resultados para capacidad antimicrobiana

	VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN <small>Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.</small>		Código	BBM202401
		INFORME DE RESULTADOS DE TESIS		Versión	1
				Año	2024
				Página	1 de 2

INFORME DE ENSAYOS N.º 0274-2024

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Stefany Gaibor y Stalin Flores
Muestras	Bacterias de interés de estudio (<i>Bacillus spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Shigella spp.</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>)
Código asignado UEB	INV 274
Estado de la muestra	Sólida
Envase de recepción	Viales
Análisis requerido(s)	Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial obtenido de la corteza de naranja variedad valenciana (<i>Citrus sinensis</i>) y naranja agria (<i>Citrus aurantium</i>)
Fecha de recepción	9 de diciembre 2024
Fecha de análisis	9 al 13 de diciembre 2024
Fecha de informe	26 de diciembre del 2024
Técnico asignado	SXSJ

Bacterias	Muestra 1	Halo de inhibición	Antibiótico	Muestra 2	Halo de inhibición	Antibiótico
<i>Bacillus spp.</i>	5 ug	20 mm		15 ug	20 mm	
	10 ug	25 mm	Ceftriaxona	10 ug	30 mm	Amoxicilina
	15 ug	20 mm		5 ug	20 mm	
<i>Escherichia coli.</i>	Muestra 1	Halo de inhibición		Muestra 2	Halo de inhibición	
	5 ug	20 mm		15 ug	30 mm	
	10 ug	30 mm	Ceftriaxona	10 ug	35 mm	Amoxicilina
	15 ug	25 mm		5 ug	25 mm	
<i>Shigella spp.</i>	Muestra 1	Halo de inhibición		Muestra 2	Halo de inhibición	
	5 ug	20 mm		15 ug	30 mm	
	10 ug	30 mm	Ceftriaxona	10 ug	35 mm	Amoxicilina
	15 ug	25 mm		5 ug	25 mm	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Muestra 1	Halo de inhibición		Muestra 2	Halo de inhibición	
	5 ug	25 mm		15 ug	30 mm	
	10 ug	35 mm	Ceftriaxona	10 ug	35 mm	Amoxicilina
	15 ug	25 mm		5 ug	25 mm	

<p style="font-size: small;">Escanea este código QR para: SANTIAGO XAVIER SANTOS JARA</p>	
Elaborado Ing. Santiago Santos Técnico del Laboratorio	Revisado Dr. Favian Bayas Director de Investigación

Nota. Informe de resultados para concentración mínima inhibitoria

Anexo 6

Fotografías de la investigación

Obtención del aceite esencial



Nota. Pelado de las variedades de naranja



Nota. Naranja valenciana (amarilla) y Naranja agria (verde)



Nota. Picado de la cáscara

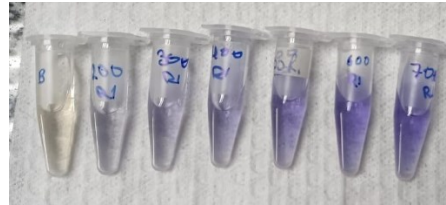


Nota. Alcohol a 60% y medido 90ml

Medición de antioxidantes



Nota. Preparación del reactivo FRAP



Nota. Preparación de las diluciones

Método E-test



Nota. Preparación de las concentraciones del antibiótico

Anexo 7

Glosario de términos técnicos

Aceite esencial:

Compuesto volátil y aromático que se encuentra en algunas plantas, generalmente en partes como hojas, flores, frutos, corteza o raíces. Se utiliza en aromaterapia, cosmética, medicina tradicional y como complemento dietético.

Actividad antioxidante:

La capacidad de una sustancia para inhibir o reducir la oxidación de otras moléculas del cuerpo. Los antioxidantes son importantes para combatir el estrés oxidativo y prevenir el daño celular.

Actividad antimicrobiana:

La capacidad de una sustancia para inhibir o matar microorganismos como bacterias, virus, hongos o parásitos que pueden causar enfermedades.

Citrus:

Un nombre común que se refiere a plantas del género Citrus, que incluyen, entre otras, naranjas, limones, limas, pomelos y mandarinas.

Citrus aurantium:

El nombre científico de la naranja agria, una variedad de cítricos originaria del sudeste asiático, ampliamente cultivada por su fruto y su uso en la medicina tradicional.

Citrus sinensis:

Nombre científico de naranja dulce o naranja valenciana, un tipo de cítrico muy cultivado por su fruto jugoso y dulce.

Destilación:

El proceso de separar los componentes volátiles de una mezcla líquida mediante evaporación y condensación. En este caso hablamos de destilar plantas para extraer aceite esencial.

Estrés oxidativo:

Un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y la capacidad del sistema antioxidante del cuerpo para neutralizarlas puede provocar daño celular y contribuir al desarrollo de enfermedades.

Naranja valenciana:

Variedad de naranja cultivada en la región de Valencia, España, conocida por su sabor dulce y jugoso. Esta es una de las variedades más comunes de naranjas dulces que se utilizan para consumo en fresco y en la producción de jugo.

Naranja agria:

Variedad de naranja conocida por su sabor amargo y utilizada en la cocina y la medicina tradicional en diversas partes del mundo.