



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE ÁLAMO TEMAPACHE

TITULACIÓN

TESIS PROFESIONAL

Caracterización y evaluación de la captación de radicales libres del
aceite esencial de naranja (*Citrus Sinensis*) caída en Álamo
Temapache Veracruz.

PRESENTA:

LUGO GÓMEZ ISELA KARINA

PARA OBTENER TITULO DE:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

DIRECTOR DE TESIS:

M.B. ALEJANDRO CRUZ HERNÁNDEZ

CO-DIRECTOR DE TESIS:

DR. LEANDRO CHAIRES MARTÍNEZ

XOYOTITLA, ALAMO TEMAPACHE, VER. SEPTIEMBRE 2023

DEDICATORIA

A Dios: Porque me dio amor, fortaleza e inteligente, porque él y yo sabemos que no fue nada fácil pero tampoco imposible, porque a gracias a él hoy estoy demostrado que todo ha valido la pena, pero sobre todo por darme la vida y la oportunidad de llegar aquí para poderles decir a mis papás “papá y mamá lo hemos logrado”.

A mis padres: A ti mamá que, sin tu amor, paciencia, aliento no estuviera en este momento aquí, por ser mi amiga y consejera a la vez, por todos y cada uno de los momentos juntas que jamás olvidaré. A ti papá porque me enseñaste hacer independiente, responsable, por la orientación que he necesitado. Por apoyarme en mis decisiones, aunque no estuvieras de acuerdo, pero sobre todo por aquellos mensajes de cada mañana que me motivaban a seguir.

A mí hermanos: A ti hermano porque siempre me protegiste porque creíste en mi cuando incluso yo no hacía, porque fuiste mi compañero de locuras y la única persona en dónde me he sentido segura. A ti hermana porque eres mi compañera de vida, porque gracias a ti nunca me he sentí sola, fuiste mis ojos cuando yo no estaba y mi pañuelo cuando más lo necesitaba.

A mis sobrinos: A Joshua y Josué sé que son muy pequeños para entenderlo, pero ser su tía me salvó de un orificio que ni yo sabía que estaba dentro; le dieron de nuevo sentido a mi vida y un motivo por el cual luchar.

A mis abuelitos: A mi mamá Inos que siempre ha sido mi guía en todo este tiempo por ser mi segunda mamá y primer gran amor, hoy su niña está logrando lo que alguna vez soñó. A mí mamá Chela y abue Tacho porque hace un año conocí a otra persona llena amor y apoyo, por recibirme con los brazos abiertos a su casa, pero sobre todo por darme a una gran madre y amiga como lo es mi mamá.

A mis tíos y primos: Que siempre estuvieron para mí en todo momento, por el amor y abrazos que me dieron. A mí tío Tony porque sin su ayuda yo no estaría en este momento aquí, es algo que nunca no podré olvidar y que siempre tendré presente, gracias por siempre alentarme a ser mejor en todas las circunstancias y sobre todo por hacerme saber lo orgullo que está de mí, espero y no fallarle nunca.

AGRADECIMIENTO

"La realidad no es lo que nos sucede, sino lo que hacemos que suceda".

Un agradecimiento especial a Dios, por permitirme estar en esta vida y darme salud, por grandeza y su apoyo durante mi formación profesional y por seguir dándome fuerzas para seguir en mi vida personal y profesional...

A mi asesor por lograr mi objetivo propuesto, además de su tiempo y empeño mostrado hacia mí en cada aspecto del trabajo, brindarme los conocimientos necesarios y apoyo moral incondicional.

Agradezco al Instituto Tecnológico Superior de Álamo Temapache por haberme forjado junto con sus docentes de la especialidad de Ingeniería en Industrias Alimentarias el conocimiento y actitud frente a la vida que ahora poseo y que también contribuyeron en mi formación profesional y espiritual.

Agradezco a mis amigos porque a pesar de ser pocas son reales y sinceras, hemos vivimos momentos buenos y malos, el cual sabemos que estaremos los unos a los otros en el momento que nos necesitemos. Por todo el amor y confianza que han rendido en mi pero sobre todo por toda la amistad que me han dado.

Agradezco al Consejo Veracruzano de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (COVEICYDET) por integrarme al rubro de estudiantes becados del proyecto "Creación del Centro de Desarrollo Tecnológico de Productos Postcosecha y Subproductos de Veracruz" con clave CJ AR 052/2022.

Para ellos: Muchas gracias y que Dios los bendiga.

Lugo Gómez Isela Karina.

RESUMEN

Los aceites esenciales son de gran importancia en la Industria Alimentaria, Farmacéutica y de Belleza, sus propiedades podrían fungir como soportes para un buen desempeño en el proceso alimentario. En la presente investigación, se trabajó con la cáscara de la naranja (*Citrus sinensis*) caída de la ciudad de Álamo Temapache Ver. Y se analizó el contenido de aceite esencial usando dos métodos (Sonificador y Soxhelt). Las muestras fueron puestas a un pretratamiento de secado a estufa a $35^{\circ}\text{C}\pm 1$ y molidas, mientras que otra porción fue trabajada en fresco. Ambos métodos tienen un impacto positivo en la extracción, sin embargo, el rendimiento mediante la extracción con el sonicador fue de 3.719% y 2.526% con el método soxhlet cuando la cáscara fue trabajada en fresco. Por otra parte, la actividad antioxidante fue de 75.32% en el aceite de la cáscara fresca por el método de soxhelt, dejando a los demás procesos con un mínimo de actividad antioxidante. En cuanto al contenido de fenoles totales se obtuvo la ecuación de $y=1.5024x + 0.006$, con una $R^2 = 0.994$, logrando obtener un mayor contenido de fenoles totales de 364.5542713 ± 0.016 mgEAG/ml en cáscara de naranja fresca en el método de soxhelt. La actividad antimicrobiana se evaluó ambos métodos y se comparó con una muestra de aceite esencial externa el cual se obtuvo una mayor actividad microbiana en la cáscara de naranja fresca por el método de sonicador contra *Rhizopus stolonifer*.

ABSTRACT

Essential oils are of great importance in the Food, Pharmaceutical and Beauty Industry, their properties could serve as supports for good performance in the food process. In the present research, we worked with the orange peel (*Citrus sinensis*) fallen from the city of Alamo Temapache Ver. and the essential oil content was analyzed using two methods (Sonifier and Soxhelt). The samples were put to a pretreatment of drying to oven at $35^{\circ}\text{C}\pm 1$ and ground, while another portion was worked in fresh. Both methods have a positive impact on extraction, however, the yield by extraction with the sonicator was 3.719% and 2.526% with the soxhlet method when the shell was worked fresh. On the other hand, the antioxidant activity was 75.32% in the fresh peel oil by the soxhelt method, leaving the other processes with a minimum of antioxidant activity. Regarding the content of total phenols, the equation of $y = 1.5024x + 0.006$ was obtained, with an $R^2 = 0.994$, achieving a higher content of total phenols of 364.5542713 ± 0.016 mgEAG / ml in strawberry orange peel in the soxhelt method. The antimicrobial activity was evaluated both methods and compared with a sample of external essential oil which obtained a greater microbial activity in the fresh orange peel by the sonifier method against *Rhizopus stolonifer*.

INDICE TEMÁTICO

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
CAPITULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes	2
1.2. Planteamiento del problema.....	4
1.3. Justificación.....	5
1.4. Hipótesis.....	6
1.5. Objetivos generales y específicos	7
1.5.1. Objetivo general.....	7
1.5.2. Objetivos específicos	7
1.6. Metas.....	8
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	9
2.1. Naranja	9
2.1.1. Composición nutricional de las naranjas	9
2.1.2. Beneficios del consumo de la naranja.....	10
2.1.3. Origen	11
2.1.4. Características botánicas de la naranja	11
2.1.5. Cosecha del fruto de naranja.....	12
2.2. Cáscara de naranja.....	14
2.2.1. Beneficios de la cáscara de naranja	14
2.3. Aceite esencial.	16

2.3.1.	Beneficios	17
2.3.2.	Tipos de aceite esenciales.....	17
CAPITULO III. ESTADO DEL ARTE.....		18
3.1.	Estudios de Extracción de aceites.....	19
CAPITULO IV. METODOLOGÍA		21
4.1.	Equipos, reactivos y materiales.....	21
4.2.	Recolección de la materia prima.....	21
4.3.	Acondicionamiento de la materia prima	21
4.4.	Diseño Experimental.....	22
4.4.1.	Extracción de aceite esencial por el método de Soxhlet.....	22
4.4.2.	Extracción por el método de sonificador	23
4.5.	Determinación del rendimiento del aceite esencial.....	24
4.6.	Método DPPH como determinación de actividad antioxidante	25
4.7.	Determinación de contenido de fenoles totales.....	25
4.8.	Determinación de actividad antimicrobiana.....	26
4.8.1.	Cepa de hongos.....	26
4.8.2.	Prueba de difusión con disco y determinación del porcentaje de inhibición del crecimiento antimicrobiano	26
CAPITULO V. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....		27
5.1.	Resultados	27
5.1.1.	Determinación de rendimiento de muestras.....	27
5.1.2.	Actividad antioxidante (ensayo DPPH).....	27
5.1.3.	Contenido de fenoles totales.....	28
5.1.4.	Actividad antimicrobiana.....	29
5.2.	Discusión.....	33

5.2.1.	Determinación del rendimiento del aceite esencial	33
5.2.2.	Actividad antioxidante (ensayo DPPH).....	33
5.2.3.	Contenido de fenoles totales.....	34
5.2.4.	Actividad antimicrobiana.....	35
CAPITULO VI. CONCLUSIONES.....		37
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		38

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	La extracción de aceite esencial de naranjas caída, se llevó e acuerdo al diagrama de flujo.	24
Figura 2.	Curva de calibración fenoles totales (mg/mL), empleando ácido gálico como estándar. 28	
Figura 3.	Pruebas de difusión con disco de aceite esencial.....	31
Figura 4.	Pruebas de difusión con disco de aceite esencial.....	32

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Composición nutricional del fruto de la naranja.....	10
Tabla 2.	Métodos de extracción de aceite esencial.....	19
Tabla 3.	Equipos, reactivos y materiales ocupados en la extracción.....	21
Tabla 4.	Diseño experimental	22
Tabla 5.	Determinación de rendimiento de aceite esencial.....	27
Tabla 6.	Actividad antioxidante del aceite esencial.....	28
Tabla 7.	Valores de contenido de fenoles totales del aceite esencial.....	29
Tabla 8.	Valores de actividad microbiana del aceite esencial.	30

TABLA DE SÍMBOLOS

AE: Aceite esencial.

AEO: Aceite esencial de orégano.

Cas. Fres. Son: Cáscara fresca sonificador.

Cas. Fres. Sox: Cáscara fresca soxhelt.

Cas. Seca Son: Cáscara seca sonificador.

Cas. Seca Sox: Cascara seca soxhelt.

DPPH: 2,2- Difetil-1- Picrilhidrazilo.

FCR: Folin-Ciocalteu.

HD: Hidrodestilación.

H₂O: Agua.

K₂S₂O₈: Persulfato de potasio.

LCL: Lipoproteínas de baja densidad o colesterol malo.

MeOH: Metanol.

mgEAG/ml: Miligramo equivalente de ácido gálico sobre mililitro.

mm: Milimetro

mg/ml: Miligramo por litro.

mg/ml-P/V: Miligramo por litro- Peso por volumen.

MWHD: Hidrodestilación asistida por la radiación con microondas.

Na₂CO₃: Carbonato de sodio.

nm: Nanómetros.

OAHD: Hidrodestilación asistida calentamiento óhmico.

PDA: Agar Dextrosa de Patata.

pH: Potencial de hidrógeno.

μL: Microlitro.

UV/Vis: Ultravioleta visible.

V/V: Volumen a volumen.

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales (AE) se obtienen de plantas, flores y otros productos de origen vegetal, lo cual, son utilizados para obtener productos farmacéuticos, cosméticos, aromaterapia, perfumes e incluso algunos se usan en la industria alimentaria (Conjunto LAR de México, 2022). Hoy en día se ha averiguado que varios aceites esenciales tienen distintos grados de actividad antimicrobiana, antivirales, antifúngicas, nematocidas, antioxidantes e insecticidas (Mirabet, 2020).

Diferentes investigaciones argumentan el contenido de AE puede variar dependiendo el método de extracción, por ende, se han desarrollado procedimientos nuevos y/o alternativos más eficientes, que sean económicos y favorezcan al ambiente.

La inexistencia de estudios a la caracterización y evaluación de extracción de AE de la cáscara de naranja caída, resulta una alternativa, pues el objetivo principal es caracterizar la captación de radical libre de AE de la naranja caída mediante el sonificador y soxhlet. Así mismo, como objetivos específicos, cuantificar el rendimiento de la AE de naranja caída, el cual se realizará una comparación de ambos métodos y se analizará la calidad del aceite esencial.

En la ciudad de Álamo Temapache se cultivan cítricos, aportando en 50% a nivel nacional, sin embargo, la dada escases de agua y mal manejo del cultivo, como el uso desmedido de productos químico. Esta problemática ha llevado a la caída del fruto generando así una pérdida del 50% de naranja, y dentro de esta el desarrollo de larvas que se convierten en moscas que a futuro infectaran los frutos. Es por ello, que se desea dar un valor agregado al fruto caído para que los citricultores tengan una entrada económica más.

1.1. Antecedentes

El autor Germansfuster, (2015) menciona que “según la mitología la naranja fue denominada como la manzana de oro”. Según la naranja se origina en Asia, de ahí surgieron nuevas variedades, como el naranjo dulce (*Citrus Sinensis*) y el naranjo amargo (*Citrus Aurantium*)

En el siglo XVIII el sacerdote Vicente Monzó cultivó el primer plantío de naranja en Carcagente (Ribera Alta, Valencia) y su crecimiento fue continuo. Actualmente el cítrico es un fruto con vitamina C, como su principal compuesto, además, contienen otros nutrientes. Por consiguiente, países como Brasil, España, India, Estados Unidos y por supuesto México, utilizan millones de hectáreas para cultivar sus diferentes variedades, sin olvidar que pocas frutas, tienen tantas cualidades a nivel nutricional, vitamínico y preventivo.

Tilo, (2022) demostró en su artículo que las caídas de frutos en desarrollo se producen por la separación del pedúnculo, en aquellos que no se han fecundado bien y/o aquellos que no son capaces de mantener un alto ritmo de desarrollo a diferencia de otros que sí son capaces de continuar absorbiendo nutrientes. Durante todo el periodo de su desarrollo se siguen produciendo caídas, en mucha menor cantidad, separándose por la zona del cáliz. Por otra parte, Probelte, (2020) señala la dicha separación se produce debido a una serie de transformaciones citológicas que se dan en un territorio que se conoce como la capa de abscisión. En ella, se producen fenómenos de degradación de las paredes celulares por el surgimiento de ciertas enzimas hidrolíticas, entre las que acentúan la celulasa y la poligalacturonasa.

Castillo, (2011) menciona que el “fruto se separa del árbol por la zona de abscisión, creándose la capa de abscisión, debido al debajamiento de las paredes celulares por la acción de hidrolasas, como la celulosa, sobre la celulosa de la corteza”. Por otra parte, Safont, (2021) argumenta los aceites esenciales son compuestos extraídos de las plantas, sobre todo cítricas, capturando su olor y sabor o “esencia”. Estas esencias naturales tienen sus propiedades esenciales y un aroma único que contribuye bienestar al cuerpo humano. Para Echeverría, (2020) los AE son significativos en la naturaleza, pues ayudan en el esparcimiento y reproducción de las especies vegetales, ya que permiten atraer a los insectos polinizadores.

Así mismo, los aceites esenciales tienen numerosas características medicinales que les son comunes. Cada aceite esencial tiene su propio rango terapéutico específico.

1.2. Planteamiento del problema

La naranja dulce (*Citrus sinensis*) proviene de la familia de las Rutáceas, considerada una de las especies de mayor importancia alimenticia y económica (Rueda et al., 2006). Es utilizada para su aprovechamiento en fresco como fruta de temporada o para la extracción de zumo. Así mismo, se aplica en la Industria Agroalimentaria para la creación de jaleas, jugos, mermeladas, pectinas, licores y en productos de confitería (Díaz, 2002).

Es un cultivo muy valorado por su versatilidad, sin embargo, en el Norte del estado de Veracruz, en la temporada 2022-2023 provocó una caída en la producción del 50% lo que generó que los citricultores tuvieran una pérdida estimada en 16 mil millones de pesos.

La producción promedio en la región es del 2.5 millones de toneladas de naranja Valencia y en esta temporada productiva que terminó en abril, descendió a 1.25 millones de toneladas, demostró el investigador del Centro de Investigaciones Interdisciplinarias de Desarrollo Rural Integral de la Universidad Autónoma Chapingo (CIIDRI-UACH) Manuel Ángel Gómez Cruz (Perea, 2023).

Esto fue debido a la presencia de once enfermedades, en especial la aún desconocida “amarillamiento” de los cítricos, el amarillamiento causó en los árboles de naranja brotes amarillos que avanzan hasta cubrir su totalidad; hojas puntiagudas, pequeñas y con coloración amarillenta; frutos pequeños con cáscara dura y maduración temprana; ramas secas; muerte de árboles e incluso pérdida de huertas completas (Perea, 2023). La caída del cítrico ha ocasionado grandes pérdidas económicas, y por lo tanto de producción, esto se ve reflejado en la calidad de vida de los citricultores de la ciudad. E inclusive se ha optado por cambiar el cultivo por otro de interés, como el árbol de lichee (*Litchi Chinensis*) y el árbol de achiote (*Bixa orellana*), desplazando algunos lugares cítricos. Dado lo anterior, en la presente investigación se le da un aprovechamiento de la naranja caída haciendo que la comunidad no pierda dicho interés de una parte importante de la fruta que hoy en día es considerado como alimento para bovinos. De igual manera se podrá precisar con exactitud la caracterización y la evaluación de la captación radical libre del aceite esencial de naranja caída por lo que en la región (Álamo Temapache) no hay reportes sobre este tema.

1.3. Justificación

A nivel local, la preocupación por la pérdida de naranja caída a tomado una gran fuerza entre la comunidad ejidataria, ya que la fruta caída es un hospedero de larvas de moscas, y por ser caída no se considera un cítrico de calidad para diferentes empresas agroindustriales, por lo tanto, el fruto pasa hacer utilizado para actividades con menor importancia.

De hecho, estudios recientes han demostrado que las cascaras de frutas como la naranja contiene flavonoides, antioxidantes y diez veces más vitamina C que la pulpa, que podría tener un efecto benéfico en la salud humana (Infobae, 2022).

En México la caída de frutos de cítricos en la cosecha interna de 10 mil 977 toneladas de naranja, por consiguiente, pasa hacer utilizado como alimento para animales, por lo que su aprovechamiento no resulta ser importante. Se aspira la procreación de valor agregado tanto para la cosecha caída como para la cáscara de naranja, misma que hoy en día es tomada como desecho o alimento de bovinos dirigido a la industrialización de frutos cítricos, comerciantes minoristas de jugos cítricos y por parte de los consumidores de la fruta como tal.

En este trabajo se propone una alternativa biotecnológica para la caracterización y evaluación de la captación de radicales libres del AE de naranja (*Citrus Sinensis*) caída y obtener productos de valor agregado, utilizando el método de soxhelt y sonificador el cual hará que el extracto sea más eficiente.

1.4. Hipótesis

La eficiencia de la extracción del AE de la cáscara de naranja caída, tendrá el efecto de la captación de radicales libres, compuestos fenólicos y actividad antimicrobiana.

1.5. Objetivos generales y específicos

1.5.1. Objetivo general

Caracterizar el aceite esencial extraído a partir de la cáscara de naranja (*Citrus Sinensis*) caída y evaluar la captación de radical libre de aceite esencial caída mediante el método sonificador y el método soxhlet.

1.5.2. Objetivos específicos

- ✚ Extraer el aceite de la naranja caída fresca y seca por los métodos de soxhlet y sonificador.
- ✚ Cuantificar el rendimiento de la extracción de aceite de la cáscara de la naranja por el método soxhlet y sonificador considerando la cáscara es fresca y seca.
- ✚ Determinar el contenido de fenoles totales del aceite a partir de la naranja (*Citrus Sinensis*) caída.
- ✚ Evaluar la actividad antioxidante de los aceites extraídos.
- ✚ Realizar un análisis comparativo de la actividad antimicrobiana del aceite esencial extraído.

1.6. Metas

- Darle un valor agregado a la naranja caída.
- Evaluación de la actividad antimicrobiana y cancerígena del aceite esencial de la cáscara de naranja.
- Desarrollo de recubrimiento comestible de alta eficiencia a base de nanoemulsiones que contiene el aceite esencial de la naranja.
- Crear un biofertilizante a base del aceite esencial.
- Innovar un producto alimenticio a base del aceite esencial.

CAPITULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Naranja

La naranja es un fruto denominado *Citrus Sinensis*, corresponde a la familia de Rutáceas, una familia muy amplia que contiene 1700 especies de plantas que se desarrollan en países de clima templado y cálido (WEISS, 1997).

González-Sicilia y Schneider (1968), mencionan que los cítricos son hesperidio de naranjas (frutos carnosos), el color varía según variedad y especie; al igual que su forma puede ser ovalada, esférica aplanada o no; la corteza es indehisciente, gruesa, la superficie exterior es más o menos rugosa o lisa, y su color depende en gran medida de la temperatura a la que se formó. Para Murphy, (2019) menciona que el naranjo dulce se le considera la especie más importante y es el más cultivado de todos los cítricos. Continua: las mandarinas, los limones, limeros, por mencionar algunos.

Gergensen y León, (1999) identifican a los cítricos fundamentalmente por sus frutos grandes que contienen cantidades cuantiosas de ácido cítrico. Del mismo modo, todos los miembros del género *Citrus* contienen aceites que les brindan aromas muy profundos. Además, contienen alto contenido en vitamina C, 100 gramos de naranja abarca el 90% de necesidades diarias de esta vitamina. Además, incluye flavonoides (con efectos antioxidante, antiinflamatorio y antitumoral) y limonoides (Ceberio, 2020)

2.1.1. Composición nutricional de las naranjas

Carreira, (2022) reporta la composición nutricional de la naranja (Tabla 1) destaca por ser una extraordinaria fuente de vitamina C, ácido fólico, flavonoides y minerales como el potasio y magnesio.

Tabla 1. Composición nutricional del fruto de la naranja por 100 gramos de fruta.

100 g de naranja contiene	
Energía	40,37 Kcal
Agua	86,9 g
Proteína total	1,00 g
Grasas totales	0,10 g
Hidratos de carbono totales	8,25 g
Fibra	1,69 g
Magnesio	12,6 mg
Potasio	179 mg
Vitamina A total	40,01 mcg
Carotenoides	240,05 mcg
Ácido fólico	39 mcg
Vitamina C	52 mg

Tomado de: Programa de cálculo nutricional CESNID.

2.1.2. Beneficios del consumo de la naranja

Según Carreira, (2022), los beneficios del consumo de la naranja son:

- ✓ Efecto antioxidante

Gracias a la vitamina C y los flavonoides de la naranja, protege las células del daño causado por los radicales libres, que pueden contribuir al desarrollo de determinadas enfermedades y afectar el proceso de envejecimiento.

- ✓ Aliados cardiovasculares

La vitamina C puede inhibir la oxidación del "colesterol malo" (LDL) y prevenir su depósito en las paredes de los vasos sanguíneos, previniendo así la aterosclerosis. Además, los flavonoides de naranja pueden fortalecer las paredes de los capilares y mejorar la flexibilidad de las arterias en personas propensas a sufrir trombosis, edema y venas varicosas.

- ✓ Previene el estreñimiento:

La fibra de las naranjas ayuda a prevenir y mejorar el estreñimiento, además tiene propiedades laxantes.

- ✓ Ayuda a combatir la anemia

En caso de anemia ferropénica se recomienda comer naranjas o cualquier otro cítrico junto con alimentos ricos en hierro (carne, pescado, etc.), el hierro ferroso se transforma en hierro ferroso, lo que facilita su absorción. El resultado es una recuperación acelerada. Una naranja promedio aporta alrededor de 85 mg de vitamina C, que es el 100% del requerimiento diario recomendado (60 mg por día).

2.1.3. Origen

Un estudio realizado por Orduz y Garzón, (2012) de la naranja del cultivar Valencia (*Citrus Sinensis*) se originó en la China, pero fue identificada en Portugal antes de 1865; es clasificada como de cosecha tardía en el subtrópico. Es la variedad de naranja dulce más cultivada en las regiones citrícolas del mundo, de la misma manera México ocupa el quinto lugar a nivel mundial en producción de cítricos, siendo el responsable del 12% de lo que se produce se vende a otros países y el 85% de la producción se destina al consumo interno; los primordiales países productores aparte de México son Brasil, China, Estados Unidos e India.

Marisa, (2020) indica que hoy en día la producción de naranjas se extiende por todos los países del mundo, sobre todo, los que gozan de climas templados.

2.1.4. Características botánicas de la naranja

Según Avilán y Rengifo, (1987) hacen mención que la planta del naranjo (*C. Sinensis*), es una planta perenne de porte recto, de tamaño medio que puede alcanzar una altura de seis a diez metros, dependiendo del patrón que se haya usado para su establecimiento es de madera dura y corteza fina de color verde a gris marrón. Por su parte, Davices y Albrigo, (1995) mencionan que las raíces de los cítricos se forman pelos radicales de origen epidérmico, aunque son poco frecuentes, y su número, tamaño y duración dependen básicamente de la temperatura, la aireación y el pH. La velocidad media de elongación de las raíces cítricas es fuertemente dependiente de la temperatura, tanto en el caso de las raíces pioneras, como el de las fibrosas, y muestra un aumento lineal positivo en el crecimiento de 17 a 30° C.

De acuerdo con Agusti, (2003): El tallo presenta dos tipos de crecimiento: longitudinal, debido a la actividad de los meristemos apicales y en grosor, debido a la actividad del

cambium, este desarrollo posee una cinética irregular; en un principio es muy lento, y aumenta sucesivamente hasta reducir poco a poco y finalmente terminar.

Los cítricos cultivados germinan a una altura entre 50 y 80 cm, posee un solo tronco, con tres o cuatro ramas primordiales, conforme a la densidad e incremento de las ramas, estas ayudan al rasgo general del árbol, la forma de las ramas verticales es redondeada, mientras que las horizontales son aplanadas, como consecuencia de la actividad diferencial del cambium, dando origen a un crecimiento hipotrófico que influye en la forma del dosel de los árboles (Agusti, 2003).

Sylversten, (1985) señalo que las hojas jóvenes en cítricos son de color verde pálido y cambian a verde oscuro al cesar el crecimiento del brote, las hojas de los cítricos son perennes (la abscisión ocurre todo el año y no de una sola vez) y aunque aparentemente simples, son hojas compuestas imparipinnadas que conservan solo el foliolo terminal, como lo prueba la articulación entre el limbo y el peciolo, se presentan dos puntos de abscisión: entre el limbo y el peciolo y entre el peciolo y el tallo, excepto en el limonero y el cidro en los que las hojas, al nacer, son de color rojizo y van tornándose verdes con su desarrollo.

Agustí, (2003) indico que las flores del naranjo son generalmente hermafroditas y de tamaño mediano, de aspecto ceráceo y color generalmente blanco, se representa agrupadas o aisladas en racimos en forma de corimbo, y a veces de cima, que pueden ser terminales o desarrollarse en las axilas de las hojas, cada flor tiene un pedúnculo corto, articulado, desnudo y carnoso con su parte superior ensanchada, lo que constituye el receptáculo.

Según en la revista de Biologa, (2021) las flores del naranjo son de unos dos centímetros de diámetro, posee un color blanco y un perfume intenso, muestra estambres numerosos y cinco pétalos, se localizan solitarios o agrupadas en las axilas.

Albrigo, (2004) saca a relucir que las semillas de los cítricos son de forma y tamaño variable, el número promedio de semillas por fruto aplaza de una diversidad a otra y también tiene relación con las condiciones de cultivo, existen características comunes para una misma especie: Las formas más comunes son fusiformes, ovoides, cuneiformes y deltoides.

2.1.5. Cosecha del fruto de naranja

Arias (2012) encontró que el factor principal en la cosecha de frutos es el color, pero este proceso es altamente subjetivo, por lo que surge la necesidad de analizar métodos fáciles de usar y duraderos que faciliten a los productores la cosecha de frutos en condiciones fisiológicas en niveles óptimos. De forma resumida, los aspectos más destacados del avance del procedimiento de recuperación se detallan a continuación:

- Se recomienda principalmente la poda para reducir el tamaño de los árboles y facilitar la recolección; asimismo, evite trepar a los árboles ya que pueden poner en peligro el bienestar de los trabajadores y la integridad del cultivo.
- Una vez determinado el momento de cosecha, se recomienda cosechar la fruta en un estado similar de madurez para simplificar las condiciones de manejo y almacenamiento y reducir el riesgo de pérdidas poscosecha.
- La recolección debe realizarse con tijeras para evitar que las cáscaras sean rasgadas y dañadas por el hongo verde (*Penicillium digitatum*) en zonas secas (Arias 2012).
- Para ello utiliza tijeras de podar o tenazas afiladas, haz cortes donde se unen los tallos y no dejes que los tallos que sobresalen se detengan, ya que pueden causar daños al manipular el fruto posteriormente. Por ello, estas herramientas deben someterse a ciertas medidas de higiene antes y después de cada cosecha o cuando entren en contacto con frutales y árboles enfermos.
- Si es necesario utilizar escaleras, evitar colocarlas en ramas y evitar el uso de ganchos y postes, que provocan un desgarramiento excesivo del follaje, las flores y los frutos verdes (Arias 2012).
- En la recolección de frutos cosechados en el campo, se recomienda utilizar bolsas de fibra o cestas de caña con capacidad no mayor a 10 kg y equipadas con correas que permitan a los trabajadores tener las manos libres. Evite también el uso de cajas, ya que la fruta en el fondo del recipiente soporta un peso excesivo, provocando daños

mecánicos. Daños y pérdida de calidad; Este es un entorno crítico para la naranja, que es muy susceptible a sufrir daños por aplastamiento.

- Los envases deben mantenerse limpios y lavados y desinfectados entre cosechas para evitar la contaminación de los cítricos (Garzón, 2012). Sólo deben utilizarse para cítricos, es decir, no para otras actividades de cultivo como el almacenamiento de herramientas y productos químicos agrícolas.

2.2. Cáscara de naranja

Castro, (2023) describe que el cítrico más consumido en todo el mundo es la naranja, sin embargo, existen escasos conocimientos sobre cómo la cáscara de naranja es fuente de una amplia diversidad de nutrientes que favorecen la salud. Diferentes estudios científicos sostienen que la cáscara o piel de naranja cuenta con muchas propiedades cuyos efectos en el organismo previenen el desarrollo de varias enfermedades como el cáncer (Castro, 2023). La cáscara de naranja tiene un contenido de sacarosa del 24,585%, de celulosa del 69,096% y de hemicelulosa del 9,015%; el primordial nutriente antioxidante en las cáscaras de naranja es la hesperidina de 33.39 mg/g, tiene grandes provechos para la salud humana, en especial para el sistema nervioso central (Castro, 2023).

El carbohidrato es el macronutriente más cuantioso en la piel de la naranja, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), la pectina es abundante en un tipo peculiar de carbohidratos; se comprende de igual manera como carbohidrato oligosacárido o prebiótico, y favorece al intestino delgado (Castro, 2023).

Las cáscaras de naranja son ricas en fibra soluble, han señalado los investigadores, y las cáscaras de cítricos y limón también son buenas fuentes de flavonoides, pero la mayoría de las personas desconocen estas propiedades de las cáscaras de naranja, por lo que normalmente optan por tirarlas.

La cáscara o la piel de naranja en promedio llega alcanzar hasta el 20% del peso total de las naranjas. Al desecharlas se desaprovechan propiedades en pro de la salud.

2.2.1. Beneficios de la cáscara de naranja

A continuación, se describen algunos beneficios de acuerdo a lo reportado por Castro 2023.

La cáscara de naranja contiene flavonoides y fitoquímicos lo cual se recomienda que los conviertan en un remedio natural contra el descontrol en el colesterol. Estos antioxidantes limpian las arterias y evitan la formación de la placa lipídica que causa su obstrucción. Por otra parte, esto favorece a la salud cardiovascular, ya que reduce el riesgo de hipertensión, ataques al corazón y derrames cerebrales. La cáscara de naranja contiene compuestos activos en donde tiene un efecto alcalino que ayuda a disminuir la acidez estomacal. Dicho consumo equilibra el pH digestivo y reduce el exceso de formación de ácidos ante problemas digestivos. Mejora los trastornos digestivos. Se considera que cien gramos de cáscara de naranja contribuye hasta 50,81 gramos de fibra dietética, un nutriente esencial para mejorar la salud digestiva; su ingesta regular reduce el tránsito intestinal lento, por otra parte, promueve la eliminación de los desechos que se retienen en el colon (Castro, 2023). Investigadores han corroborado dichos efectos de los extractos naturales de la cáscara de naranja contiene una alta concentración de compuestos fenólicos y antioxidantes y tiene propiedades tanto antisépticas como antibacterianas. Además de los internos y externos, también combate muchos patógenos dañinos, incluida E. coli. Escherichia coli y Listeria monocytogenes.

Algunos investigadores han sugerido que las cáscaras secas de cítricos pueden ser un tratamiento complementario para la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); La cáscara de naranja contiene diez veces más vitamina C que el jugo de frutas, lo que la convierte en uno de los aliados más convenientes para fortalecer el sistema inmunológico. Este nutriente antioxidante previene la propagación de bacterias y virus y mejora así los mecanismos de defensa contra enfermedades respiratorias como bronquitis, resfriados, gripe, alergias y asma.

La cáscara o piel de la naranja posee altos niveles de vitamina C, gracias a ello, se minimizan la presencia de manchas y otras marcas antiestéticas del envejecimiento prematuro, además, la cáscara de naranja nos ayuda a aclarar y cubrir esas pequeñas alteraciones que aparecen por la exposición al sol, las quemaduras y las toxinas, el cual su infusión sirve como tónico natural, ya que limpia a profundidad los poros y así evitar la formación de espinillas, puntos negros y granos de acné (González, 2022).

2.3. Aceite esencial.

Según Sainte, (2018) describe que antes el término de aceite esencial era una contracción del término inglés quintessential oil, ya que se pensaba que la destilación y la evaporación eran procedimientos para la eliminación del espíritu de la planta, de igual modo se refleja en nuestro lenguaje, ya que el término espíritus se usa para detallar bebidas alcohólicas destiladas, actualmente, sabemos que, lejos de ser espirituales, los aceites esenciales son de naturaleza física y están compuestos de mezclas complejas de productos químicos.

Navarro, (2022) señala que cada uno de los aceites esenciales tiene su propia composición basada en la diversidad de sus componentes químicos, esto podría variar de una planta a otra, e incluso, de una especie a otra, por tal manera, su calidad puede verse afectada por algo tan simple como el fertilizante durante la temporada de crecimiento, el periodo de cosecha y la parte recolectada afectan a la potencia y eficiencia del producto resultante.

El cual si a esto le sumamos los patrones climáticos, las regiones geográficas y clima en donde se cultiven las plantas, se podrá tener una visión de la complejidad de su producción.

De acuerdo a la revista de Infobae, (2019) los aceites esenciales son mezclas de moléculas con diversa actividad biológica, las sustancias bioactivas son responsables de las propiedades antimicrobianas, el cual, son compuestos fenólicos como carvacrol, el timol o el cinamaldehído, así mismo, estas sustancias mayoritarias presentan algunos componentes minoritarios que pueden producir efectos sinérgicos con otras moléculas, por consiguiente incrementa las propiedades antimicrobianas.

Según la revista de Life, (2021) el uso de la naranja dulce como aceite esencial ha emergido en la industria cosmética debido a sus propiedades y a los distintos estudios que la avalan, además, el aceite esencial de naranja dulce tiene múltiples beneficios para la salud humana como antiinflamatorio, antidepresivo, antiséptico, afrodisíaco, carminativo, diurético, tónico, sedante y colagogo.

2.3.1. Beneficios

Según Mutu, (2021), el aceite esencial tiene beneficios como:

- Catarros y congestión
- Infección de los senos nasales
- Estrés y ansiedad
- Depresión
- Dolor muscular
- Problemas cutáneos
- Reducción de la inflamación
- Cicatrización de heridas
- Dolores de cabeza
- Sueño

2.3.2. Tipos de aceite esenciales.

Nirvana & Spa, 2017 hace mención de los tipos de los aceites esenciales que hoy en día existen:

- Aceite esencial de árbol del té.
- Aceite esencial de ciprés.
- Aceite esencial de eucalipto.
- Aceite esencial de geranio.
- Aceite esencial de incienso.
- Aceite esencial de lavanda.
- Aceite esencial de limón.
- Aceite esencial de mandarina.
- Aceite esencial de menta.
- Aceite esencial de naranja.
- Aceite esencial de romero.
- Aceite esencial de ylang-ylang.

CAPITULO III. ESTADO DEL ARTE

La extracción de aceite esencial se ha realizado mediante técnicas convencionales y emergentes, por ejemplo, la hidrodestilación asistida por microondas de aceites esenciales a partir de residuos húmedos de cáscara de cítricos Bustamante et al., (2016) donde el autor realizó con éxito la extracción de aceite esencial presente en los residuos húmedos de piel de cítricos reduciendo costes, evitando el uso de aditivos y mejorando la eficacia del proceso. Para lograr este objetivo se consideraron los factores que afectan la escalabilidad del proceso para desarrollar un nuevo modelo de biorrefinería para ser utilizado a escala industrial.

Por otra parte, Das et al., (2020) caracterizó la eficacia de recubrimientos de nanoemulsión comestibles que contenían aceite esencial de naranja dulce y alginato de sodio, y luego se evaluó la actividad antibacteriana y antibio película en condiciones de cultivo de especies únicas y múltiples. Los tomates recubiertos con recubrimiento comestible mejoraron significativamente la firmeza hasta en un 33%, disminuyeron las bacterias mesofilas totales, incluidas y, simultáneamente, examinó su efecto de recubrimiento en varias características de calidad de los tomates a $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante un período de almacenamiento de 15 días.

Por otro lado, Li et al., (2021) preparó una nueva película compuesta de empaque a base de gelatina de piel de pescado (*Cynoglossus semilaevis*) y quitosano soluble en agua incorporado con las concentraciones de aceites esenciales de cáscara de naranja y caracterizado, la integración de aceite esencial de la cáscara de naranja dependiente de la dosis, disminuyó los estándares resistencia a la tracción, modelo elástico, contenido de humedad, permeabilidad al vapor de agua y solubilidad en agua, sin embargo, el aceite esencial aumentó el alargamiento a la rotura y el ángulo de contacto.

Con respecto, a la mezcla de aceite esencial con otras especias Padilla-Camberos et al., (2022) demostró que con el aceite esencial de pimienta de jamaica reduce la inflamación del oído en más del 65 % y la actividad antiinflamatoria del aceite esencial de pimienta de jamaica mejora cuando se combina con aceites esenciales de cáscara de naranja dulce y comino, lo que da como resultado una reducción de la inflamación del edema en más del 85 %, similar a la indometacina. Como alternativa al tratamiento antiinflamatorio, la mezcla de

aceites esenciales es farmacológicamente segura ya que no es tóxica ni mutagénica. A cerca de la modificación artificial de la composición química del aceite de la naranja Anaya-Gil et al., (2021) Evaluó el efecto sobre la acción larvicida al variar artificialmente la composición química del aceite de naranja (*Citrus Sinensis L.*). En cuanto a mejorar alguna lesión hepática a base de la cascara de *Ananas comosus* y *Citrus Sinensis*.

Unanma et al., (2021) demostró a base de un estudio el cual reveló los potenciales antioxidantes y hepatoprotectores de los extractos de cáscara de metanol de *Ananas comosus* y *Citrus Sinensis* y también demostró que podrían servir como fuentes principales de terapia alternativa y suplementos dietéticos.

3.1. Estudios de Extracción de aceites.

A continuación, se presenta una tabla de algunos estudios relacionados a la extracción de aceite esencial.

Tabla 2. Métodos de extracción de aceite esencial.

Método	Ventajas	Limitaciones	Referencias
Prensado	La velocidad, la consistencia y la eficacia.	El método incorrecto de conectar al cable puede dar lugar a una conexión problemática y poco fiable.	P-Themes, 2021 Siebert y Siebert, 2021
Enfleurage	Consiste en extender una capa de flores o plantas entre dos capas de materia grasa	Es muy laborioso, muy frágiles que no soportan el calor de la destilación, es costoso y de bajo rendimiento.	Abeniacar, 2023 Noguera y Noguera, 2021
Maceración	Permite extraer todas las características, la esencia del producto principal.	No logra extraer totalmente pura la esencia del producto a macerar.	Frumen, 2016 Malecocktail, 2018
Extracción con solventes volátiles	Los solventes solubilizan la esencia, pero también otras sustancias como grasas y ceras.	Tiene restricciones en cuanto a los residuos máximos que pueden dejarse cuando los aceites esenciales son materia prima en las industrias	J. A. L. López, 2014 Orteño, 2006
Destilación por arrastre mediante vapor de agua	Accede la separación de sustancias insolubles en agua y ligeramente volátiles de otros productos no volátiles.	Requiere de grandes cantidades de calor para evaporar al mismo tiempo el agua y el compuesto de alto punto de ebullición.	Zarza, 2021 López, 2014

Extracción con fluidos supercríticos	Es un estado de la materia en la que se localiza bajo condiciones de presión y temperatura superior a su punto crítico.	El equilibrio de fase entre soluto y solvente puede ser complicado.	Luque de Castro et al., 1993 Moreta, 2012
---	---	---	--

CAPITULO IV. METODOLOGÍA

4.1. Equipos, reactivos y materiales.

Tabla 3. Equipos, reactivos y materiales ocupados en la extracción.

Equipos	Marca	Reactivos	Marca	Materiales	Marca
Soxhelt	Electrothermpl	Persulfato de potasio	Meyer	Micropipetas	Labnet y Science med
Sonificador	TEFIC	Metanol	Fermont	Matraz	Supertek
Espectrofotometro	Único	Folin	Golden bell	Vasos precipitados	Supertek
Molino de laboratorio	KRUPS	DPPH	Sigma	Parrilla de laboratorio	StableTemp, Thermo scientific y Cimarec
Campana de extracción	Luzeren	PDA	Fluka	Agitador magnético	Kimax
Agitador	Vortexer	Carbonato de sodio	Meyer	Tubos precipitados	Kimax
Secador	Memmert	Ácido gálico	Sigma	Pipetas	Kimax
Incubadora	Ladnet	Agua	Jalmek	Puntillas	Vertex y SSI
Autoclave	Allamerican	Éter de petróleo	Jalmek	Tubos eppendorf	Eppendorf
Bascula	Adam	Alcohol etílico	Meyer	Placa petri	Termo scientific

4.2. Recolección de la materia prima

Se recolectaron naranjas caídas en zonas de mayor prevalencia de la Zona de Álamo Temapache Ver. Se colocaron 11 naranjas por prueba en bolsas negras y fueron llevadas al laboratorio de Investigación de Alimentos y Ambiental (CIAA).

4.3. Acondicionamiento de la materia prima

Las naranjas fueron lavadas con agua destilada estéril, y una solución de hipoclorito de sodio al 200ppm, posteriormente, fueron enjuagadas 3 veces. Con un peso aproximado de 1.250 kg, finalmente se procedió a pelar las muestras con ayuda de utensilio punzocortante, y se realizaron fracciones de aproximadamente de 0.5 cm a 1 cm de grosor.

4.4. Diseño Experimental

En la extracción de aceite esencial de la cáscara de naranja, se realizaron mediante el método de soxhlet, en muestras secas (35°C durante 24 horas) y muestras frescas. En el caso de la extracción por sonicación, el aceite fue extraído en muestras secas a 35°C durante 24 h en una estufa de secado. Y también fue extraída en cáscara fresca. Se realizó un diseño experimental completamente al azar por bloques, para evaluar el contenido de fenoles totales, la captación de radicales libre, la actividad antimicrobiana y el rendimiento (Tabla 2). Para este caso las muestras fueron denominadas como; Cas. Seca Sox. (Cascara Seca por método de Soxhlet), Cas. Fres. Sox. (Cascara Fresca por método Soxhlet), Cas. Seca. Son. (Cascara Seca por método de Sonificador) Cas. Fres. Son. (Cascara Fresca método Sonificador).

Tabla 4. Diseño experimental

Muestra	Rendimiento (%)	Actividad antioxidante	Contenido de fenoles totales	Actividad antimicrobiana
Cas. Seca Sox.	--	--	--	--
Cas. Fres. Sox.	--	--	--	--
Cas. Seca Son.	--	--	--	--
Cas. Fres. Son.	--	--	--	--
Control (aceite comercial)	--	--	--	--

4.4.1. Extracción de aceite esencial por el método de Soxhlet.

Se realizaron tres muestras experimentales del tratamiento, colocando una cantidad determinada de alcohol etílico, se introdujo la cáscara de naranja fresca en tres cartuchos de 20x18 cm como un peso de 60 g de cáscara fresca, en el interior de la cámara soxhlet, se utilizó etanol como solvente, y se colocó así el tubo de refrigerante a una temperatura de 70°C, iniciando de esta manera la extracción con el equipo soxhlet (Figura 1), este procedimiento se realizó por 4 horas continuas. Para el caso de la cáscara seca (Figura 1), se realizó el mismo procedimiento solo que se realizó un secado de cáscara a una temperatura

de 35°C durante 24 horas, de igual manera, la muestra se molió con ayuda de un procesador de alimentos.

Una vez cumplido las horas establecidas, se retira el tubo refrigerante n° 1, 2 y 3 el cual solo ara un sifón, de la misma manera se sacará los cartuchos con ayuda de unas pinzas para crisol, para así poder extraer el aceite de la solución, teniendo así una ebullición del disolvente a 50°C. Una vez retirando la solución del extracto se colocará en tubos precipitado.

4.4.2. Extracción por el método de sonificador

Se pesaron 11 g de cáscara seca triturada y se colocaron en vasos precipitados de 250 ml, se agregaron 100 ml de alcohol etílico, con ayuda de un agitador magnético la muestra se mantuvo en homogenización, y se sometió al sonificador teniendo una temperatura de 20 a 55 °C, cada diez segundos; teniendo una velocidad de 5 para remover, el proceso duro 2 horas en cada una de las muestras, para que este puede romper las paredes celulares (fragmentación subcelular). Una vez obtenida las muestras, se recuperaron en un matraz de 250 ml, junto con agitador magnético, y se adicionó 10 ml de éter de petróleo en cada una de las muestras; dejándolas en una parrilla, posteriormente se separarlo del éter de petróleo agregado con ayuda de una micropipeta de 5 ml. Por consiguiente, se pasan ambas pruebas en tubos precipitados para así poder volatizar y realizar los análisis correspondientes. Para el caso de la cáscara fresca, se realizó mediante el mismo procedimiento por triplicado, sin ser triturada.

Figura 1. La extracción de aceite esencial de naranjas caída, se llevó e acuerdo al diagrama de flujo.



Figura 1. Diagrama del proceso de extracción. Elaboración propia.

4.5. Determinación del rendimiento del aceite esencial

Para analizar el rendimiento; se llevaron tubos ependort de 2 mL a peso contante y se registró el peso, posteriormente se colocó el aceite en cada tubo ependort y se tomó el peso, y por diferencia se obtuvo el peso del aceite esencial. En cuanto al rendimiento se realizó

mediante la siguiente ecuación $\% \text{ Rendimiento de extracción} = \frac{M2}{M1} \times 100$. Donde; M1= Peso de cáscara de naranja en gramos y M2= Peso de aceite esencial de la cáscara de naranja.

4.6. Método DPPH como determinación de actividad antioxidante

Se preparó una solución de 79.6 mg de DPPH en 105 ml de MeOH, se agito y se le agrego 13.2 mg de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) y se dejó en un recipiente de vidrio en oscuridad. Posteriormente se midió la absorbancia (760nm) en un espectrofotómetro UV/Vis, tomando en cuenta que la lectura debe estar de 0.7 a 0.9 nm.

La base del método de captación de radicales es la reducción de radicales libres de DPPH mediante antioxidantes, lo que da como resultado la decoloración de la solución de metanol de DPPH de púrpura a amarillo. Ambos aceites esenciales se prepararon en diluciones de 30 mg/ml MeOH como solvente. Y para tomar las lecturas, se añadieron 480 μ L del reactivo DPPH a 20 μ L de la dilución preparada e inmediatamente se procedió a tomar la lectura cada minuto, durante 5 minutos. Finalmente, el porcentaje de eliminación de radicales DPPH se calculó como sigue Eq. (2):

$$\% \text{ de captación DPPH} = \frac{A_{\text{Incial}} - A_{\text{Final}}}{A_{\text{Inial}}} \times 100$$

Donde, A_{Inicial} expresa la absorbancia del control y A_{Final} es la absorbancia de la muestra. Para comparar el poder de eliminación de radicales de los aceites esenciales.

4.7. Determinación de contenido de fenoles totales.

La cantidad de compuestos fenólicos totales se midió con el reactivo de Folin-Ciocalteu (FCR). La base del trabajo fue reducir el FCR por compuestos fenólicos en el medio alcalino y crear un complejo azul.

Se preparó un ácido gálico (1mg/ml-P/V) como estándar para la curva de calibración, y se prepararon disoluciones de 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 mg/ml con MeOH (V/V), primero de realizaron disoluciones, para ello 10 μ L de aceite esencial se mezclaron con 200 μ L de MeOH, y posteriormente se tomaron 50 μ L de la disolución de la muestra más 50 μ L de metanol, por lo cual se tomaron alícuotas de 100 μ L de la solución diluida del estándar de Ácido Gálico, más 2500 μ L de H_2O destilada estéril, se agito en vortex por 3 segundos,

después se le agregó 100 µL del reactivo de Folín y se dejó reposar durante 6 minutos, finalmente se le añadió 500 µL de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 15 % (P/V) se llevó a vortex durante 3 segundos, y se dejó reposar durante 30 min, para ello se tomaron tres muestras de cada uno de los procesos, se leyó a 760 nm y el resultado se expresó en mgEAG/ml.

4.8. Determinación de actividad antimicrobiana.

4.8.1. Cepa de hongos.

La cepa de hongo ocupada fue la siguiente *Rhizopus stolonifer* extraído de un pan blanco y caracterizada mediante técnicas descritas en la web. La cepa de hongo se cultivó en medio PDA, y se llevó a una incubadora durante 24 h. Previamente el medio de cultivo fue esterilizado en una autoclave a una temperatura de 150 °C durante 15 min.

4.8.2. Prueba de difusión con disco y determinación del porcentaje de inhibición del crecimiento antimicrobiano

Se desarrolló el proceso de difusión con disco, en donde se utilizaron las cinco muestras de aceites esenciales, el cual cuatro son de las muestras obtenidas a base del método de soxhelt y sonificador; y otra base de muestra de aceite esencial propuesto. El proceso se basa en inocular uniformemente, con la bacteria de interés, superficie de una placa del medio de cultivo; colocando sobre la superficie del medio de cultivo un disco de papel filtro ya esterilizado que contenga el agente antimicrobiano en la concentración deseada e incubar bajo las condiciones idóneas requeridas por el hongo utilizado. Los agentes antimicrobianos se extienden en el agar e impiden la germinación formando halos donde no hay crecimiento bacteriano visible, el diámetro de los halos de inhibición es referente a la susceptibilidad del microorganismo al antimicrobiano probado.

CAPITULO V. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1. Resultados

5.1.1. Determinación de rendimiento de muestras

El mayor rendimiento fue para el tratamiento Cas. Fres. Son. Con $3.719 \pm 0.369\%$ estadísticamente diferente al resto de los tratamientos (Tabla 5), esto al realizar una prueba de Tukey ($p > 0.05$) y 1.763% de cáscara de naranja seca por el método de sonificador. El contenido de aceite esencial de cáscara de naranja caída fue de 2.526% con cascara fresca, 0.960% con cáscara de seca por el método de soxhelt.

El método de extracción tuvo influencia con respecto al rendimiento ya que cuando se usa el sonicador el proceso de extracción es sin pérdida de energía, en comparación con un tiempo de extracción más largo por el método soxhelt (4 horas), y la perdida de disipación y difusión de energía al entorno circundante y pérdida de algunos compuestos volátiles.

Tabla 5. Determinación de rendimiento de aceite esencial.

ACEITE	RENDIMIENTO %
Cas. Fres. Sox.	2.526 ± 0.951^b
Cas. Seca Sox.	0.960 ± 0.003^b
Cas. Fres. Son.	3.719 ± 0.369^a
Cas. Seca Son.	1.763 ± 0.063^b

5.1.2. Actividad antioxidante (ensayo DPPH).

La captación de radicales libres del aceite (Tabla 6) esencial de la cáscara de naranja por el método de soxhelt fue; Cas. Fres. Sox. Con 75.32% y 62% en Cas. Seca Sox; y el método del sonicador, dio rendimientos de captación de radicales nula, tan solo alcanzaron de 15 a 23% . Con este resultado se puede determinar que el método de soxhelt fue mejor en comparación al sonicador, esto al realizar un análisis de comparación de medidas (Tukey, $p > 0.05$)

Tabla 6. Actividad antioxidante del aceite esencial.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	
MÉTODO	PORCENTAJE %
Cas. Fres. Sox.	75±1.528 ^A
Cas. Seca Sox.	62.±1.300 ^B
Cas. Fres. Son.	15.6±0.2050 ^D
Cas. Seca Son.	23±0.515 ^C

5.1.3. Contenido de fenoles totales.

Los resultados fueron procesados mediante la ecuación de la Figura 2, obtenida a partir de los datos de la curva patrón, empleando como estándar ácido gálico (1mg/mL). La construcción de la curva de calibración arrojó una ecuación $y=1.5024x + 0.006$, con un coeficiente de correlación de 0.994

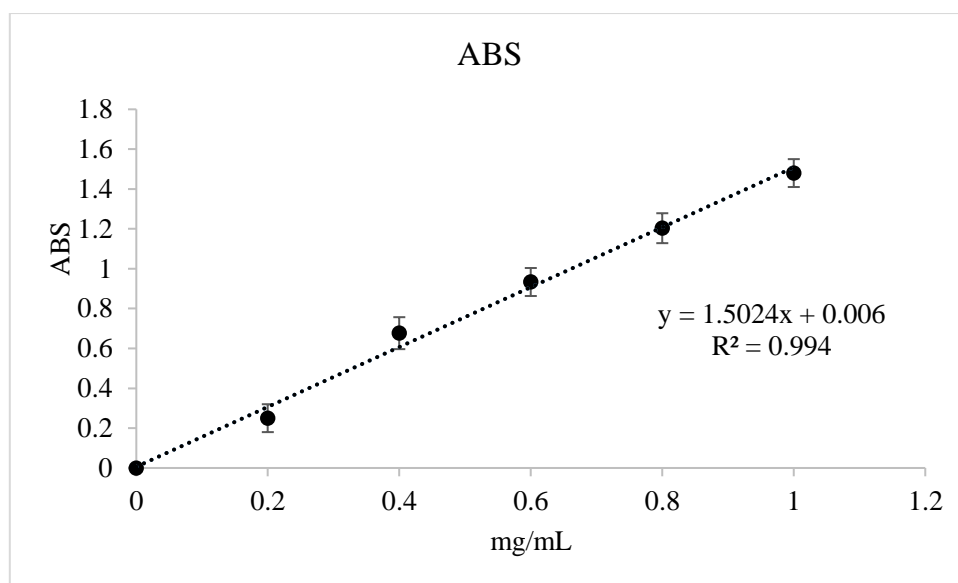


Figura 2. Curva de calibración fenoles totales (mg/mL), empleando ácido gálico como estándar.

Los resultados de contenido de fenoles totales para ambos métodos de aceites esenciales se muestran en la tabla 6. El contenido fenólico total del aceite esencial de la cáscara de naranja caída obtenido mediante el método de soxhelt y sonificador fue de 364.55, 319.26, 137.26 y

235.26 de mgEAG/ml respectivamente. Parece que la aplicación del método de soxhelt en comparación de la aplicación del método de sonificador dio como resultado una mayor eficiencia de extracción de compuestos fenólicos que el método de sonificador.

Esto puede deberse al flujo de calor más eficiente del soxhlet, la reducción de temperatura de la muestra y la aplicación simultánea de calor. La forma libre de compuestos fenólicos combinados se ha atribuido a la liberación de estos compuestos en el líquido intracelular y al aumento de su eficiencia de extracción. La baja solubilidad de los compuestos fenólicos en los aceites esenciales y los compuestos combinados con el material de la cáscara pueden explicar los bajos valores de contenido de fenoles totales en el aceite esencial de cáscara de naranja.

Tabla 7. Valores de contenido de fenoles totales del aceite esencial de cascara de naranja.

MUESTRA	mgEAG/ml
Cas. Fres. Sox.	364.5542713±0.016 ^b
Cas. Seca Sox.	319.2602631±0.010 ^b
Cas. Fres. Son.	137.2602631±0.011 ^c
Cas. Seca Son.	235.2602631±0.014 ^{bc}
Control	501.2602631±0.0152 ^a

5.1.4. Actividad antimicrobiana.

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de cáscara de naranja contra un microorganismo que causan infecciones y envenenamientos transmitidos por los alimentos se presenta en las Tabla 7. El aceite esencial mostró un buen efecto inhibitorio contra todos los microorganismos bajo investigación con diferentes grados de distancia. De acuerdo con los resultados de las pruebas del sonificador, soxhelt y aceite esencial de muestra; la comparación entre el hongo asignado bajo investigación, superior a la actividad de los aceites esenciales de cáscara de naranja fresca por el método de soxhelt y sonificador contra *Rhizopus stolonifer*. Los mayores halos de inhibición en la prueba de difusión en disco (diámetro del disco 6 mm), mostraron alta resistencia del microorganismo al aceite

esencial. El análisis de los resultados indicó que el aceite esencial de la cáscara de naranja fresca obtenido tanto por el método de sonificador como el aceite esencial de muestra tuvo un efecto muy fuerte sobre *Rhizopus Stolonifer* de modo que en todas las pruebas antimicrobianas se obtuvieron las diluciones del aceite esencial de muestra más bajas y los halos de inhibición más grandes ($p < 0,05$). El aceite extraído de las cáscara de naranja (*Citrus Sinesis*) del municipio de Álamo Temapache presentó actividad antimicrobiana contra el hongo proporcionado, en la mayoría del hongo, excepto con algunas muestras de cáscara de naranja seca por el método de sonificador el cual presento un efecto mínimo de distancia. La cáscara de naranja fresca por el método de sonificador presentó una distancia más grande que el método de soxhelt, sin embargo, si presente una cantidad aceptable de distancia del hongo. En géneros como *Rhizopus stolonifer* se observó un efecto de distancia superior al 50% del aceite esencial de cáscara de naranja fresca (Figura 3 y 4).

Tabla 8. Valores de actividad microbiana del aceite esencial de la cáscara de naranja.

	Área	Mean	Min	Max	Angle	Length
1	0.384	58.232	42.381	102.317	-87.274	11.36
2	0.33	58.957	39.472	130.222	88.409	9.73
3	0.346	71.463	55.697	159.923	-111.801	10.184
4	0.029	75.28	62.333	93.667	90	0.811
5	0.378	63.871	52.006	112.333	75.964	11.139
6	0.05	63.893	50.555	91	158.199	1.455
7	0.271	41.573	34.33	49.997	147.381	8.019
8	0.086	66.726	47.622	125.544	-77.471	2.491
9	0.059	47.859	41.651	72.667	-71.565	1.709
10	0.13	67.343	41.361	101.49	45	3.821
11	0.102	81.929	58.242	157.667	95.194	2.984
12	0.181	57.061	40.937	95	-169.824	5.353
13	0.3	43.73	31.176	71.667	-167.661	8.85
14	0.287	67.238	52.666	142	59.349	8.479
15	0.014	89.935	79.948	96.667	-45	0.382

Figura 3. Pruebas de difusión con disco de aceite esencial.

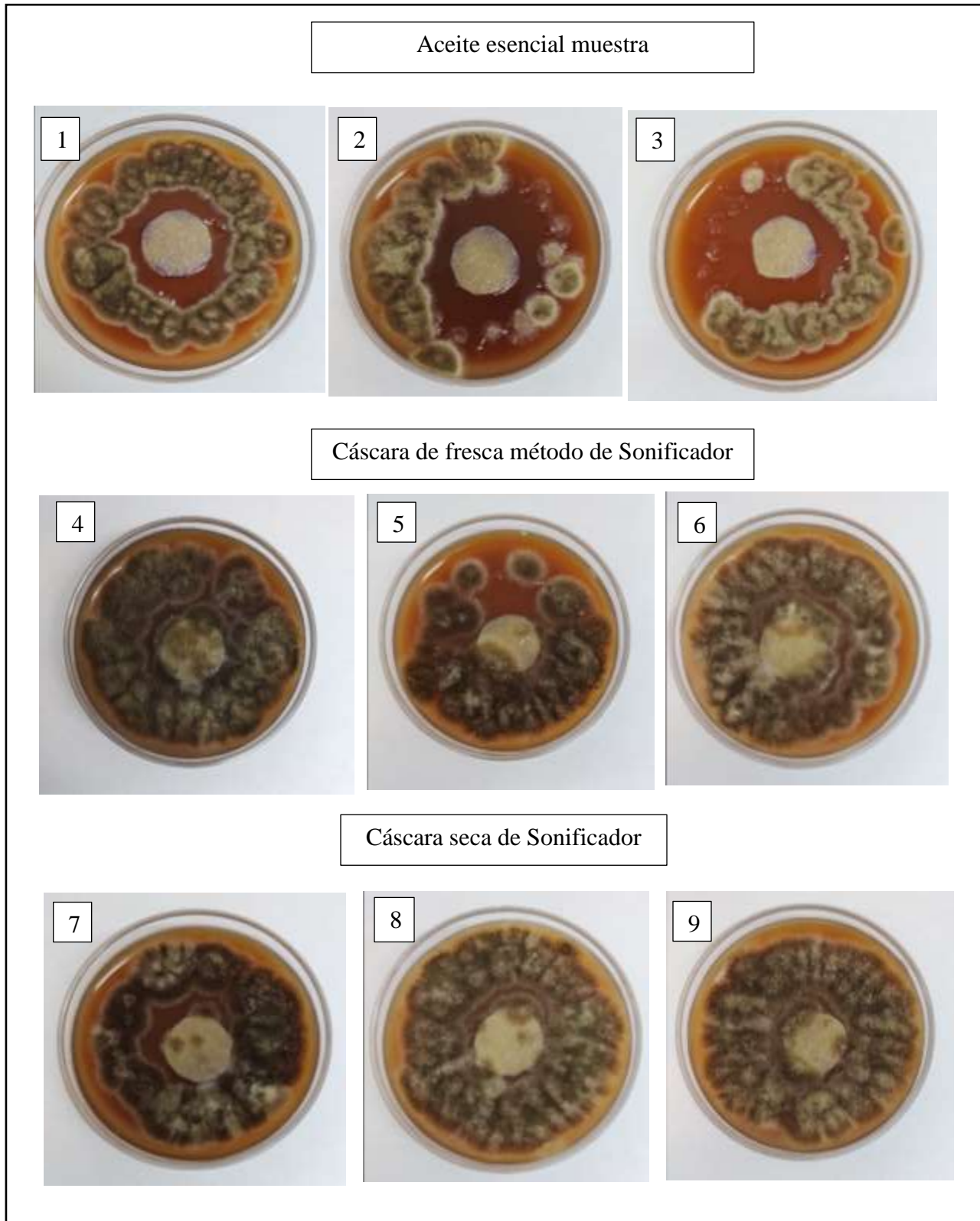
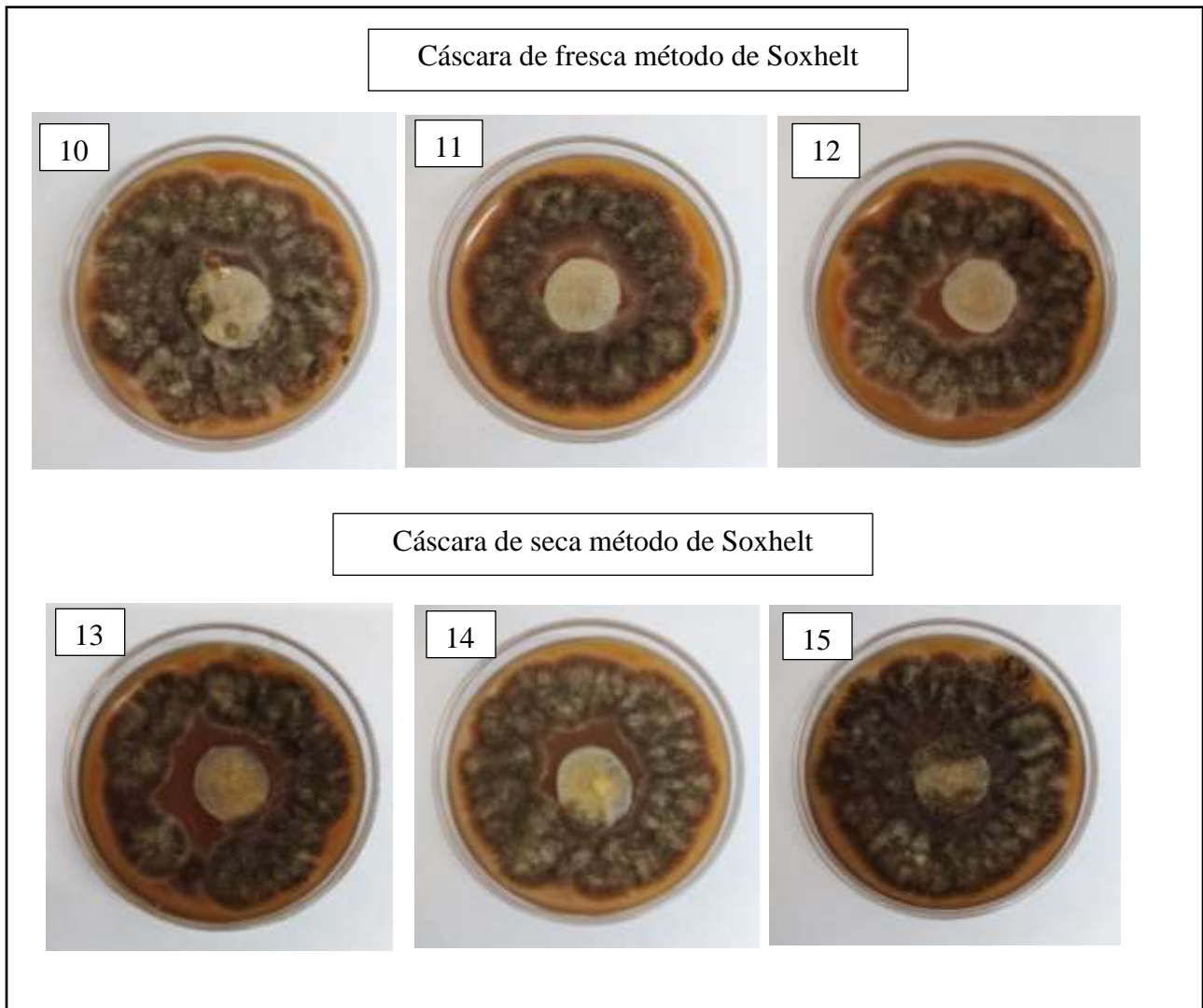


Figura 4. Pruebas de difusión con disco de aceite esencial



5.2. Discusión

5.2.1. Determinación del rendimiento del aceite esencial

En el artículo de Rojas (2008) de obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos, el rendimiento fue del 0.4% para los Aceite Esenciales (AE) de naranja y mandarina, extraídos por hidrodestilación asistida del 0.05-0.6% para los de mandarina, por radiación de microondas, fueron del 0.2% y extraídos por prensado en frío. El rendimiento de la mandarina fue de 0.06-0.14% respectivamente, sin embargo, el mayor rendimiento fue el de la naranja de 0.18 a 0.20%. Debe tenerse reportado para los mismos aceites, obtenidos de las membranas, cáscaras y mediante destilación por arrastre con vapor es de vesículas de jugo remanentes, lo que se reduce el 0.2%. La reducción con la última técnica se debe rendimiento en relación a las referencias mencionadas a la absorción de agua por el albedo.

De otra manera Glicerio (2015) caracterizo la eficacia de la hidrodestilación asistida por microondas sobre la hidrodestilación en la extracción del aceite esencial del pericarpio de la naranja. Para el método de MWHD, el tiempo con un mayor rendimiento es 60 min, con un rendimiento porcentual para el aceite esencial de 0,51 %, en cambio, en el caso de la HD se alcanza a los 180 minutos, con un rendimiento porcentual para el aceite esencial de 0,42 %.

Por otra parte, Ivonne (2010) evaluó el proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cáscara de naranja a base del método de destilación con vapor mostro un rendimiento en la simulación de 60,03 % para el aceite esencial.

5.2.2. Actividad antioxidante (ensayo DPPH).

Oscar (2012) en su artículo realizo una extracción de aceite esencial a base del orégano a un tiempo estacionario de reacción de 105 min el cual se especificaron los porcentajes de DPPH remanente para cada concentración de aceite esencial de orégano (AEO), por consiguiente se obtuvo una mayor actividad antioxidante de 87.59 a 27. 81% se obtuvo una ecuación para la recta de ajuste ($R^2= 0,99$) con la cual se determinó que la concentración de AEO necesaria para reducir la concentración de DPPH inicial al 50%.

Por otro lado, el autor Tasayco (2022) realizó la extracción de aceite esencial de *Ruta graveolens* L. para la determinación de caracterización y actividad antioxidante teniendo como resultado una mayor concentración de actividad antioxidante de 53.98% por el método de ensayo de DPPH ocupando así 0.496 de absorbancia del aceite esencial.

De igual forma, el autor Contreras (2017) con su tema de actividad antioxidante del aceite esencial a base de las hojas de Pimenta racemosa var. racemosa (Mill.) J.W. Moore (Myrtaceae) de Táchira – Venezuela demuestra un mayor poder antioxidante con un valor de 96.11% siguiendo con valor 95,11% de inhibición de DPPH, cabe resaltar que todos los aceites esenciales presentaron una reducción significativa en la concentración de radicales de DPPH, dado que su capacidad de donar protones y neutralizar así los radicales libres de DPPH, por lo que podrían tomarse en consideración a estos analitos como fuente de antioxidantes naturales.

5.2.3. Contenido de fenoles totales.

La autora Costa (2019) observó en su investigación de extracción de tres aceites esenciales a base del grano de maíz el cual se obtuvo de tres tipos de proceso de cada muestra como lo es Maíz + Niaouli, Maíz + Orégano y Maíz + Eucalipto para así obtener los resultados totales cual demostró que el contenido de fenoles totales en el tratamiento del aceite de orégano fue mayor que las demás muestras analizadas siendo de 94.68 mgEAG/ml. Incluso con los aceites esenciales de Niaouli y Eucalipto que presentaron 1.68 y 2.72 mgEAG/ml respectivamente observándose una diferencia significativa ($p < 0.05$).

Con respecto al artículo de investigación científico de Meyer (2018) demostró sus resultados obtenidos en la determinación de fenoles totales ($\mu\text{g/mL}$) del aceite esencial calendula (*Calendula officinalis* L) obtenido mediante hidrodestilación asistida calentamiento óhmico (OAHD) el cual demostró un mayor contenido de fenoles totales siendo de flores frescas (Ff) de 60.02 $\mu\text{g/mL}$ y de flores secas (Fs) de 28.60 $\mu\text{g/mL}$ e incluso con los aceites esenciales por el método de hidrodestilación (HD) que presentaron en flores secas (Fs) siendo de 59.98 $\mu\text{g/mL}$ y de flores frescas (Ff) de 25.25 $\mu\text{g/mL}$. Los resultados fueron procesados mediante la ecuación, obtenida a partir de los datos de la curva patrón, empleando como estándar diferentes soluciones de ácido tánico (50mg/L).

De acuerdo con el artículo de Mendoza (2014) la capacidad captadora de radicales libres del aceite esencial y extractos etanólicos de yacón (*Smallanthus sonchifolius* poepp. & endl) H. Robinson, cultivado en Colombia mostro el contenido de fenoles totales en las fracciones eluidas de la Amberlita con el siguiente orden de elución: F1 > F2 > F3. El cual señalo que en F1 se obtuvo un mayor contenido de fenoles totales de 0.348 mg EAG/ml e inclusive con las muestras F2 de 0.161 y F3 de 0,106 presentada con la curva de calibración con ácido gálico para el ensayo de Folin-Ciocalteu.

5.2.4. Actividad antimicrobiana.

Bermúdez-Vásquez (2019) identifico en su artículo de composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus* de la universidad de Costa Rica que el aceite extraído de las hojas de zacate de limón de Escazú mostro una actividad antimicrobiana contra todas las bacterias probadas, en la mayoría de bacterias, su efecto de inhibición sobrepasó el 50%. El material que se origina de la zona de Sarapiquí demostrando diámetros de inhibición más grandes que los del material de Escazú. En géneros como *Escherichia* se observó una secuencia de inhibición superior al 50%, en *Salmonella* el efecto inhibitorio del aceite de zacate de limón fue de 26,7-36,7%. Con respecto a la hoja de guayaba, su eficacia fue muy reducida, en general con todas las bacterias, en comparación con el aceite extraído de hojas de guayaba proveniente de Escazú. El aceite producido en la localidad de San Pedro estuvo por completo inactivo con bacterias de los géneros *Escherichia* y *Salmonella*. Las hojas de Escazú, por su parte, mostraron porcentajes de inhibición entre 32,35% y >100%, con efectos de inhibición superiores incluso al control con antibiótico.

Sánchez-Tito (2020) demostró que el aceite esencial demostró actividad antimicrobiana contra las tres cepas (*Enterococcus faecalis*, *Porphyromonas gingivalis* y *Candida albicans*) con zonas de inhibición que oscilaron entre 15,13 y 20,82 mm. No hubo diferencias al comparar los halos de inhibición de la AE de *M. mollis* de *P. gingivalis* y *C. albicans* con los controles positivos ($p > 0.05$); la clorhexidina al 0,12% fue más eficaz para inhibir el crecimiento de *E. faecalis* que el AE de *M. mollis* ($p < 0,05$). La comparación entre las tres cepas demostró que los halos de inhibición generados por la EO de *M. mollis* fueron significativamente mayores para *C. albicans* que para las dos cepas bacterianas ($p <$

0,05). Además, la inhibición del crecimiento entre *E. faecalis* y *P. gingivalis* fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$).

Cordova et al. (2020) Argumenta en su artículo que el aceite esencial mostro una actividad antimicrobiana contra *L. Monocytogenes* (Gram positiva) y *E. coli* (Gram negativa), el cual, *Monocytogenes* mostro una mayor inhibición con una zona de inhibición que oscilaron entre 15,3 y 18,4 mm, en cambio, *E. coli* presento menor inhibición a comparación de *Monocytogenes* mostraron de inhibición entre 12,2 y 14,7 mm. No hubo diferencias al comparar los halos de inhibición de la extracción de aceite esencial de naranja (*Citrus Sinensis*) por el método de extracción por microondas libre de solvente.

CAPITULO VI. CONCLUSIONES

La naranja caída es un producto de importancia debido a que aún posee propiedades y es posible la extracción de aceites esenciales de la cáscara. Siempre y cuando la naranja no haya estado más de una semana caída.

La cáscara de naranja caída es una materia conveniente, prácticamente el costo de adquisición es mínimo, debido a que casi en su totalidad la naranja es tomada como desecho o alimento para bovino.

La captación del radical libre de aceite esencial extraído a partir de naranja (*Citrus Sinensis*) caída mediante el método soxhlet mostró una mayor actividad de captación de radicales libres, sin embargo, las demás muestras analizadas son capaces de captar los radicales libres.

De los dos métodos en la obtención de aceite esencial a partir de la cáscara de naranja, se obtuvo un mejor rendimiento por el método de extracción de aceite cuando la muestra fresca fue tratada con el sonificador, totalmente diferente al resto a los demás tratamientos pero también fue el que obtuvo un menor tiempo de extracción de aceite esencial ya que fue el más corto a comparación del método de soxhelt.

Se ha determinado el contenido de fenoles totales en el proceso de cáscara fresca por el método de soxhelt mostrando altos valores de contenido a comparación del método de sonificador que demostró una baja valoración. La investigación de los datos de las pruebas antimicrobianas mostró mejores resultados del aceite esencial extraído de la cáscara de la naranja fresca por el método de sonificador y cáscara seca por el método de soxhelt.

Por otra parte se observó que las muestras frescas son las que presentaron mejores resultados, con respecto a las muestras tratadas a 35°C en estufa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abeniacar, J. P. A. (2023). El enflorado o enfleurage – una técnica milenaria. *Fundación Academia del Perfume*. <https://www.academiadelperfume.com/el-enflorado-o-enfleurage-una-tecnica-milenaria/#:~:text=El%20enflorado%20o%20enfleurage%20es,grasa%20est%C3%A1%20saturada%20del%20olor>.
2. Agustí, M. (2003). *Citricultura*. Madrid, España: Editorial Mundi-Prensa.
3. Albrigo, G. y Saúco, V. (2004). Flower Bud Induction, Flowering and Fruit-Set of Some Tropical and Subtropical Fruit Tree With Special Reference to Citrus. *Acta Horticulturae*, 632, pp. 81-87.
4. Anaya-Gil, J., Cabarcas-Caro, A., Leyva-Ricardo, M., Parra-Garrido, J., Gaitán-Ibarra, R., & Vivas-Reyes, R. (2021). Artificial modification of the chemical composition of orange oil (*Citrus sinensis* L.) and its effect on larvicidal activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(3), 1913-1918. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.12.042>
5. Arias, E. (2012). Enfermedades de los principales cultivos de Costa Rica, síntomas, desarrollo y manejo [Tesis sometida para obtener el grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía]. Heredia, Costa Rica: Universidad Nacional, Escuela de Ciencias Agrarias.
6. Avilan, L., García, M. L., Leal, F. y Sucre, R. (1987). Estudio del sistema radical del Limón Criollo (*Citrus aurantifolia* Swingle) en un suelo de origen aluvial. *Revista Facultad de Agronomía* 13(1-4), pp. 61-72.
7. Bermúdez-Vásquez, M. J. (2019). *Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de Psidium guajava y Cymbopogon citratus* L. <https://www.redalyc.org/journal/437/43757673010/html/>
8. Bióloga, D. A. P. Z. (2021). Naranja, características, variedades, propiedades y beneficios. Naranja árbol. *Naturaleza y ecología*. <https://naturaleza.animalesbiologia.com/plantas/tipos-de-frutas/naranja-tipos-beneficios-naranja-arbol>
9. Bustamante, J., Van Stempvoort, S., García-Gallarreta, M., Houghton, J., Briers, H., Budarin, V. L., Matharu, A. S., & Clark, J. H. (2016). Microwave assisted hydro-

- distillation of essential oils from wet citrus peel waste. *Journal of Cleaner Production*, 137, 598-605. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.07.108>
10. Carreira, M. (2022, 10 junio). *Beneficios y propiedades de la naranja para la salud - canalSALUD*. Blog Salud MAPFRE. <https://www.salud.mapfre.es/nutricion/alimentos/naranja-vitaminas-nutrientes/>
 11. Castillo, I. P. (2011). Aplicaciones de fitorreguladores en cítricos. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, (230), 42-46.
 12. Castro, D. E. (2023, 6 de julio). 8 propiedades medicinales de la cáscara de naranja que seguramente desconocías. *Mejor con Salud*. <https://mejorconsalud.as.com/8-propiedades-medicinales-la-cascara-naranja-seguramente-desconocias/>
 13. Ceberio, I. M. (2020, 7 diciembre). 10 beneficios de las naranjas para tu salud. *PATIA Diabetes*. <https://www.patiadiabetes.com/beneficios-comer-naranjas-salud/>
 14. Conjunto LAR de México. (2022). Los aceites esenciales, qué son, propiedades y usos. *Conjunto LAR*. <https://www.conjuntolar.com/index.php/blog/post/los-aceites-esenciales-que-son-propiedades-y-usos#:~:text=Los%20aceites%20esenciales%20son%20sustancias,usan%20en%20a%20industria%20alimentaria.>
 15. Contreras. (2017, 3 agosto). Actividad antioxidante del aceite esencial de las hojas de *Pimenta racemosa* var. *racemosa* (Mill.) J.W. Moore (Myrtaceae) de Táchira - Venezuela. Handle. <http://hdl.handle.net/20.500.12495/5883>
 16. Cordova, C., De Dios Quevedo Guillen, J., & Tuesta, T. (2020). Extracción por microondas libre de solvente del aceite esencial de naranja (*Citrus sinensis*), y el efecto de las condiciones de proceso en su rendimiento, composición y actividad antimicrobiana. *Revista chilena de nutrición*. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182020000600965>
 17. Costa, R. B. (2019, julio). *Efecto de tres aceites esenciales sobre la calidad del grano de maíz *zea mays* (linnaeus) durante su almacenamiento y sobre la mortalidad y repelencia *sitophilus zeamais* (motschulsky)*. Repositorio Universitario. <http://repositorioinstitucional.unison.mx/bitstream/20.500.12984/7101/1/costabeche-lenifrancycellireginam.pdf>

18. Das, S., Vishakha, K., Banerjee, S., Mondal, S., & Ganguli, A. (2020). Sodium alginate-based edible coating containing nanoemulsion of Citrus sinensis essential oil eradicates planktonic and sessile cells of food-borne pathogens and increased quality attributes of tomatoes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1770-1779. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.086>
19. Davie, S., Stassen, P. y Walt, M. (1995). Girdling for Increased Hass Fruit Size and Its Effect on Carbohydrate Production and Storage. *Proceedings of the World Avocado Congress III*, pp. 25-28.
20. Díaz J A (2002). Análisis del mercado internacional de aceites esenciales y aceites vegetales. Instituto Alexander Von Humboldt-Biocomercio Sostenible. Bogotá
21. Echeverria, K. (2020, 30 julio). *Aceites esenciales: sus usos e importancia - TSI Group - Tecnosoluciones Integrales*. TSI Group - Tecnosoluciones Integrales. <https://tecnosolucionescr.net/blog/232-aceites-esenciales-sus-usos-e-importancia#:~:text=Los%20aceites%20esenciales%20cumplen%20un,medicinales%20que%20les%20son%20comunes>.
22. Frumen. (2016). ¿Qué es macerar? *Frumen - Fabricantes de pan rallado*. <https://www.frumen.com/que-es-macerar/#:~:text=La%20principal%20ventaja%20de%20esta,en%20este%20caso%20la%20especia.&text=La%20t%C3%A9cnica%20es%20muy%20similar,acelera%20las%20reacciones%20de%20extracci%C3%B3n>.
23. Garzón, D. (2012). Evaluación de la influencia del déficit hídrico en el crecimiento y desarrollo de la naranja “Valencia” (Citrus sinensis Osbeck) en el piedemonte llanero de Colombia. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
24. Germansfuster. (2015). Historia de la Naranja. *Germans Fuster, S.L.* <https://www.germansfuster.com/historia-de-la-naranja/>
25. Gergensen P M, León Yáñez S (1999). *Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador*: Missouri Botanical Garden Press, 1181p.
26. Glicerio. (2015, 21 marzo). *Comparación de dos métodos de extracción del aceite esencial de Citrus sinensis L.* SCielo. <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v49n4/far14415.pdf>

27. González, R. (2022). 8 propiedades medicinales de la cáscara de naranja. *Nuestra Raíz*. <https://nuestraraizmexico.com/blogs/news/8-propiedades-medicinales-de-la-cascara-de-naranja>
28. Infobae. (2019, 16 octubre). Aceites esenciales, ¿una alternativa a los conservantes artificiales en alimentos? *infobae*. <https://www.infobae.com/america/ciencia-america/2019/10/16/aceites-esenciales-una-alternativa-a-los-conservantes-artificiales-en-alimentos/>
29. Infobae. (2022, 25 octubre). Cuáles son los beneficios del té de cáscara de naranja, según estudios. *infobae*. <https://www.infobae.com/america/mexico/2022/10/25/cuales-son-los-beneficios-del-te-de-cascara-de-naranja-segun-estudios/>
30. Ivonne. (2010, 1 octubre). *Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de cáscara de naranja*. SCIELO. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-91652011000100004
31. Life, A. T. (2021, 29 enero). Aceite esencial de naranja dulce. *Ashes TO LIFE*. <https://www.ashestolife.es/aceite-esencial-de-naranja-dulce/>
32. Li, Y., Tang, C., & He, Q. (2021). Effect of orange (*Citrus sinensis* L.) peel essential oil on characteristics of blend films based on chitosan and fish skin gelatin. *Food bioscience*, 41, 100927. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100927>
33. López, C. H. G. (2014, 18 febrero). *Destilación por arrastre de vapor*. prezi.com. https://prezi.com/ywql3jzil_wf/destilacion-por-arrastre-de-vapor/#:~:text=Desventajas%3A,de%20alto%20punto%20de%20ebullici%C3%B3n.
34. López, J. A. L. (2014, 12 junio). *Clasificación de los aceites esenciales*. Club Ensayos. <https://www.clubensayos.com/Ciencia/Clasificaci%C3%B3n-de-los-aceites-esenciales/1807273.html>
35. Luque de Castro M.D, Valcárcel M, Tena M.T. Extracción con fluidos supercríticos en el proceso analítico. España: Reverté; 1993
36. Malecocktail. (2018, 25 enero). *Tipos de maceración*. Bartender's Life. <https://malecocktail.wordpress.com/2018/01/25/tipos-de-maceracion/>

37. Marisa, N. (2020, 29 mayo). *El origen de la naranja*. Naranjas Marisa. <https://naranjasmarisa.com/el-origen-de-la-naranja/>
38. Mendoza, D. L. M. (2014). Capacidad de captación de radicales libres del aceite esencial y extractos etanólicos de yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl) H Robinson, Cultivada en Colombia. *Biosalud*, 13(2), 15. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502014000200002&lang=es
39. Meyer, G. M. T. (2018). Estimación del contenido de fenoles totales en aceite esencial de Caléndula (*Calendula officinalis* L) obtenido mediante OAH. *ION*, 31(1), v31n1-2018001. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-100X2018000100007&lang=es
40. Mirabet, E. (2020). Aromaterapia i. *Emmamirabet*. <https://emmamirabet.com/aromaterapia-i/>
41. MORETA, A. (2012). *Ventajas y Desventajas de Extracción por Fluidos Supercríticos*. espe. edu.ec. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/11958/2/ESPEL-EMI-0321-P.pdf>
42. Murphy, C. (2019). Todo sobre la naranja. *Spanish Fruits & Delicacies*. <https://www.spanishfruitsanddelicacies.com/blogs/news/la-naranja-fuente-de-salud>
43. Mutu, R. I. (2021, 27 octubre). *10 beneficios de los aceites esenciales avalados por la ciencia*. MGC Mutua. <https://www.mgc.es/blog/10-beneficios-de-los-aceites-esenciales-avalados-por-la-ciencia/>
44. Navarro, R. (2022, 4 mayo). *Qué son los aceites esenciales: beneficios y propiedades / Atida*. Consejos de Farmacia Online Atida. <https://www.atida.com/es-es/blog/diccionario-farmacia/aceites-esenciales/>
45. Nirvana & Spa. (2017, 16 marzo). *Tipos de aceites esenciales y cómo utilizarlos / NirvanaSpa*. Nirvana & Spa. <https://nirvanaandspa.com/blog/tipos-aceites-esenciales/>
46. Noguera, I. B., & Noguera, I. B. (2021, 24 noviembre). Principales métodos de extracción de aceites esenciales. *Ingeniería Química Reviews*.

<https://www.ingenieriaquimicareviews.com/2020/08/extraccion-aceites-esenciales-principales-metodos.html>

47. Orduz, J. O. y Garzón, D. L. (2012). Alternancia de la producción y comportamiento fenológico de la naranja «Valencia» (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck) en el trópico bajo húmedo de Colombia. Corpoica. Recuperado en octubre 27 de 2016 de <http://www.scielo.org.co/pdf/ccta/v13n2/v13n2a03.pdf>
48. Ortuño, M. F. 2006. Manual Práctico de Aceite Esenciales, Aromas y Perfumes. Aiyana. España. 274 p.
49. Oscar, A. B. (2012, 16 junio). *Actividad antioxidante del aceite esencial de orégano (Lippia origanoides H.B.K) Del alto patía*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612012000200010
50. Padilla-Camberos, E., Sanchez-Hernandez, I. M., Torres-Gonzalez, O. R., Del Rosario Gallegos-Ortiz, M., Méndez-Mona, A. L., Baez-Moratilla, P., & Flores-Fernández, J. M. (2022). Natural essential oil mix of sweet orange peel, cumin, and allspice elicits anti-inflammatory activity and pharmacological safety similar to non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3830-3837. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.002>
51. Perea, E. (2023). Producción de naranja cae 50% en Veracruz; estiman pérdidas por 16 mil mdp. *Imagen Agropecuaria*. <https://imagenagropecuaria.com/2023/produccion-de-naranja-cae-50-en-veracruz-estiman-perdidas-por-16-mil-mdp/#:~:text=El%20cultivo%20de%20naranja%20en,p%C3%A9rdidas%20estimadas%20en%2016%20mil>
52. P, R. L. J. (2008, 4 noviembre). *Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-40042009000100013
53. Probelte. (2020). Cómo evitar la caída del fruto y las hojas en cítricos. *Probelte España*. <https://probelte.com/es/noticias/como-evitar-la-caida-del-fruto-y-las-hojas-en->

62. Tilo. (2022). Caída fisiológica de frutos cítricos. *Agrométodos*.
<https://www.agrometodos.com/caida-fisiologica/#:~:text=Las%20ca%C3%ADdas%20de%20frutos%20en,capaces%20de%20continuar%20absorbiendo%20nutrientes>.
63. Unanma, H. C., Anaduaka, E. G., Uchendu, N. O., Ononiwu, C. P., & Ogugua, V. N. (2021). Ananas comosus and Citrus sinensis peels ameliorate CCl4-induced liver injury in Wistar rats. *Scientific African*, 14, e01026.
<https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e01026>
64. Weiss E A (1997). *Essential Oil Crops* Cab. International: New York, USA, pp. 417-511.
65. Zarza, F. (2021, 17 febrero). *¿Qué es la destilación y para qué sirve?* iAgua.
<https://www.iagua.es/respuestas/que-es-destilacion-y-que-sirve#:~:text=Destilaci%C3%B3n%20por%20arrastre%20de%20vapor,siempre%20inferior%20a%20100%20%C2%BA>