

**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA  
PROGRAMA DE ESTUDIO DE FARMACIA Y  
BIOQUIMICA**



**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO FOLIAR  
Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *CITRUS LIMETTA* RISSO  
“LIMA” CONTRA STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC  
25923**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**Autores:**

Velásquez Bravo Luz Haydé

Muñoz medina Lizbeth

**Asesor:**

Cacha Salazar, Carlos Esteban

(Código ORCID: 0000-0002-3169-5891)

**Nuevo Chimbote – Perú**

**2024**

## INDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS .....	ii
PALABRAS CLAVE.....	iii
TÍTULO .....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT .....	vi
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	9
Tipo y Diseño de investigación .....	9
Población - Muestra y Muestreo .....	9
Técnicas e instrumentos de investigación .....	11
Procesamiento y análisis de la información .....	12
RESULTADOS.....	13
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN .....	26
CONCLUSIONES .....	30
RECOMENDACIONES .....	30
ANEXOS.....	36

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	Características fisicoquímicas del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” .....	35
<b>Tabla 2</b>	Características fisicoquímicas del aceite esencial de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” .....	36
<b>Tabla 3</b>	Diámetros promedio de los halos de inhibición en la evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” y Ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	37
<b>Tabla 4</b>	Evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” y Ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, en estudio in vitro.....	37
<b>Tabla 5</b>	Diámetros promedio de los halos de inhibición en la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” y Ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	38
<b>Tabla 6</b>	Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” y Ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, en estudio in vitro.	40

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Representación gráfica de los diámetros promedio de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” y el antibiótico patrón Ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923. ....	35
<b>Figura 2</b>	Representación gráfica de los diámetros promedio de los halos de inhibición de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” y el antibiótico patrón Ciprofloxacino sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	36

## 1 Palabras clave:

<b>Tema</b>	Antimicrobiano, extracto, aceite esencial
<b>Especialidad</b>	Farmacología

## Keywords

<b>Theme</b>	Antimicrobial, extract, essential oil
<b>Specialty</b>	Pharmacology

## Línea de investigación

<b>Línea de Investigación</b>	Recursos naturales y terapéuticos
<b>Área</b>	Ciencias médicas y de la salud
<b>Subárea</b>	Medicina basica
<b>Disciplina</b>	Farmacología y farmacia

# CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe, Vicerrector de Investigación de la Universidad San Pedro:

## HACE CONSTAR

Que, de la revisión del trabajo titulado "**Actividad antibacteriana del extracto foliar y del aceite esencial de Citrus limetta Risso "lima" contra Staphylococcus áureas ATCC 25923**" del (a) estudiante: **VELASQUEZ BRAVO LUZ HAYDE**, identificado(a) con Código N° **1316200019**, se ha verificado un porcentaje de similitud del **23%**, el cual se encuentra dentro del parámetro establecido por la Universidad San Pedro mediante resolución de Consejo Universitario N° 5037-2019-USP/CU para la obtención de grados y títulos académicos de pre y posgrado, así como proyectos de investigación anual Docente.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Chimbote, 02 de agosto de 2024

UNIVERSIDAD SAN PEDRO  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN



---

**Dr. JAVIER MARTÍNEZ CARRIÓN**  
VICERRECTOR



**NOTA:** Este documento carece de valor si no tiene adjunta el reporte del Software TURNITIN.

## **2 Título**

Actividad antimicrobiana del extracto foliar y del aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima” contra *Staphylococcus ,áureus* ATCC 25923.

### 3 Resumen

El objetivo de la investigación buscó determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas y del aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima” contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 “in vitro”. Esta investigación es del tipo básico, cuantitativo y experimental. Para la ejecución de la presente investigación, en primer lugar, se obtuvo el extracto de las hojas de *Citrus limetta* Risso “lima” utilizando alcohol etílico de 70 ° GL, mediante la técnica extractiva de percolación. El aceite esencial a partir de la cascara de los frutos de la planta en investigación se obtuvo mediante el método arrastre con vapor de agua, para luego determinar la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 frente al medicamento patrón ciprofloxacino. Se concluyó que efecto antibacteriano del extracto foliar y del aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima” sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* se produce solamente a la concentración de 300 ug/mL y a la dilución de aceite esencial del 75 % en DMSO.

**Palabra clave:** Antimicrobiano, extracto hidroalcoholico, aceite esencia de *Citrus limetta* Risso, *Staphylococcus aureus*.

#### **4 Abstract**

The objective of the research sought to determine the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of the leaves and essential oil of *Citrus limetta* Risso “lima” against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 “in vitro”. This research is of the basic, quantitative and experimental type. To carry out this research, first, the extract of the leaves of *Citrus limetta* Risso “lime” was obtained using 70 ° GL ethyl alcohol, through the extractive percolation technique. The essential oil from the peel of the fruits of the plant under investigation was obtained by the steam drag method, to then determine the sensitivity of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 against the standard drug ciprofloxacin. It was concluded that the antibacterial effect of the leaf extract and the essential oil of *Citrus limetta* Risso “lima” on the *Staphylococcus aureus* strain occurs only at the concentration of 300 ug/mL and at the essential oil dilution of 75% in DMSO.

**Keywords:** Antimicrobial, hydroalcoholic extract, essential oil of *Citrus limetta* Risso, *Staphylococcus aureus*.

## 5 Introducción

### Antecedentes y fundamentación científica

Bhatti et al., (2022) realizaron un estudio de revisión, sobre cuatro plantas: *Musa paradisiaca* L, *Capsicum*, *Citrus limetta* y *Nigella sativa*, debido a su excelente efecto antimicrobiano y su amplia disponibilidad. En esa revisión, discuten los efectos antimicrobianos debido a la presencia de timoquinona, p-cimeno, pineno, alcaloides, limoneno, canfeno y melanina. Afirman que estos compuestos antimicrobianos alteran la membrana celular de los microbios, inhiben la división celular y forman biopelículas en especies bacterianas, lo que eventualmente reduce la cantidad de microbios. Sobre la extracción de estos compuestos de las respectivas plantas nos dicen que se puede hacer utilizando diferentes métodos como soxhlet, hidrodestilación, extracción líquida con líquido, extracción tipo líquida presurizada, extracción en fase-sólida, extracción con fluido supercrítico, campo eléctrico pulsado, extracción asistida por microondas, extracción enzimática, extracción por ultrasonidos y descarga eléctrica de alto voltaje. Establecen que la selección adecuada de la técnica de extracción depende en gran medida de las ventajas y desventajas asociadas. Además, en su discusión detallan cómo los agentes antimicrobianos destruyen las bacterias dañinas. En conclusión, esta revisión ofrece un conocimiento profundo a los investigadores sobre las propiedades antibacterianas de las cáscaras de las especies estudiadas.

Das et al., (2021) realizaron un estudio al darse cuenta de que durante la extracción del jugo de *Citrus limetta*, se genera una gran cantidad de subproductos, especialmente la cáscara, la cual contiene una buena cantidad de fitoquímicos que tienen muchos beneficios para la salud. La presencia de un compuesto amargo en la cáscara limita su aplicación en alimentos humanos. Este estudio aplicó el bioextracto de la cáscara de *Citrus limetta* sobre tejidos de algodón para un acabado antibacteriano. Se investigaron mediante GCMS los grupos químicos responsables del comportamiento antibacteriano y la estructura química de esta planta. Los autores concluyeron que las telas tratadas con *Citrus limetta* tienen una mayor profundidad de color (valor K/S) a mayor concentración en comparación con las telas tratadas con concentraciones más bajas. La zona de inhibición en los tejidos tratados con *Citrus limetta* revela que tiene un excelente efecto antibacteriano contra las bacterias

*Escherichia.coli* y *Listeria monocytogeneus*. Los tejidos de algodón también generan fragancia tras el tratamiento con *Citrus limetta*. Reportan haber evaluado las calificaciones de intensidad de fragancia en 200 encuestados.

Suri et al., (2022) estudiaron a *Citrus limetta* “lima dulce” que contiene un rico y valioso residuo bioactivo obtenido de la industria procesadora de cítricos. El alto contenido de humedad de las cáscaras se puede reducir secándolas y las cáscaras secas podrían usarse como insumo de elevado valor nutricional. Investigaron diferentes operaciones de secado, entre ellas el secado por infrarrojos, el secado en bandejas y al vacío, el secado multimodo por aire caliente y el sistema de secado solar de tubos de vacío sin tubo de calor y con tubo de calor, para evaluar el efecto del método de secado sobre las características de calidad de las cáscaras de lima dulce. Para ello analizaron fenoles totales, flavonoides totales, la actividad eliminadora de radicales DPPH, el perfil de color y la espectroscopía infrarroja (FTIR) de cáscara de lima dulce fresca y seca. Se encontró que el secado por infrarrojos fue una técnica adecuada para la retención del contenido de fibra cruda, cenizas y proteína cruda. Sin embargo, secado al vacío exhibió un valor L \* más alto y un valor b \* más bajo, lo que indicó una buena retención del color. Las cáscaras frescas exhibieron fenoles totales, flavonoides totales y actividad eliminadora de radicales DPPH de 25,60mg GAE/g, 18,85mg QE/g y 32,79%, respectivamente. Además, las cáscaras secadas por IRD, TD y HAD mostraron un incremento significativo en la actividad antioxidante comparado con las cáscaras frescas y aquellas sometidas a otros métodos de secado. La espectroscopia FTIR confirmó la presencia de fenoles en las cáscaras secas. Los la IRD de las cáscaras de lima dulce podría ser una forma eficaz de conservar los nutrientes, fenoles, flavonoides y antioxidantes.

Dutta, et al. (2020). Investigaron la síntesis verde de nanopartículas de plata antibacterianas y antifúngicas utilizando extracto de piel de *Citrus limetta* en estudios experimentales y teóricos, utilizaron un método novedoso de síntesis verde en un recipiente de nanopartículas de plata (AgNP) de *Citrus limetta* extracto de cáscara. Confirmaron la síntesis de AgNP de tamaño promedio de 18 nm, que se mantuvieron estables hasta 120 días. Concluyeron que los AgNP sintetizados tienen propiedades antibacterianas (*Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus* *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus epidermidis*) y antifúngicas (cándidas especies), por lo tanto, las nanopartículas tienen una

potencia antimicrobiana en patógenos tópicos.

Buyukkurt et al., (2019). Buscaron determinar los compuestos fenólicos y determinar las actividades antioxidantes de la cáscara y los jugos de lima dulce. Para ello, se prepararon zumos de lima dulce mediante dos métodos diferentes. En primer lugar, los frutos de lima dulce se exprimieron a mano sin pelar. En segundo lugar, las frutas se exprimieron manualmente después de retirarles la cáscara manualmente. Los componentes fenólicos fueron estudiados por el método de LC-DAD.-ESI.-MS/MS. Se encontraron 20 compuestos fenólicos, de los cuales 18 eran flavonoides y dos eran ácidos fenólicos. El compuesto principal fue la hesperidina tanto en la piel como en el jugo. En el presente estudio se detectaron por primera vez el dímero de procianidina B y la luteolina en la cáscara y los jugos de lima dulce. La cantidad de compuestos fenólicos de la cáscara fue significativamente mayor que la de los jugos. El contenido fenólico total del jugo de lima dulce aumentó aproximadamente un 13% de 444,55 a 502,54 mg/L debido al efecto de la cáscara. Se encontró que la capacidad antioxidante de la cáscara era mayor que la de los jugos debido a su alto contenido fenólico.

Chi et al., (2019) realizaron un estudio para identificar los metabolitos secundarios y propiedades funcionales de los aceites esenciales extraídos de hojas de *Citrus aurantifolia* Swingle, *Citrus sinensis* Osbeck, *Citrus grandis* Osbeck y aceite de las hojas de té verde y camellia grandis contenía 44 compuestos, representando porcentajes totales del 94,17% y 93,78% de aceite, respectivamente, mientras que el aceite esencial de las hojas de *C. aurantifolia* tenía 62 compuestos, representando el 97,19. % del aceite. Limoneno,  $\beta$ -pineno, sabineno,  $\beta$ -ocimeno,  $\beta$ -cubebeno, terpinen-4-ol, linalol y nerol fueron los principales del té verde mientras que el aceite esencial de *C. grandis* contenía altos porcentajes de limoneno,  $\alpha$ -felandreno,  $\beta$ -ocimeno,  $\beta$ -cariofileno, nerol, citronelol, geraniol, geranial y neral. Los principales compuestos volátiles del aceite esenciales de las hojas de *C. aurantifolia* fueron limoneno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -ocimeno,  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -terpineol, citronelol y (+)-citronelal. El aceite de *C. aurantifolia* exhibió las actividades depuradoras más fuertes (IC<sub>50</sub>=1,21 mg/ml) en comparación con las de las hojas de *C. sinensis* (IC<sub>50</sub>=1,49 mg/ml) y *C. grandis* (IC<sub>50</sub>=2,18 mg/ml). El aceite esencial de las hojas de *C. grandis* exhibió actividades antimicrobianas más fuertes que los aceites esenciales de las hojas de *C. sinensis* y *C. aurantifolia*.

Vásquez Gómez, (2023) en su tesis reportan las propiedades físico-químicas y la determinación de los principales compuestos fenólicos presentes en los aceites esenciales (AE) obtenidos de la piel de cuatro alimentos cítricos de la Región de Amazonas en el Perú, siendo estas especies la lima (*Citrus limetta* Risso), el limón dulce (*Citrus limetta* sp.), la mandarina (*Citrus reticulata*) y la naranja (*Citrus sinensis*). Los aceites esenciales se obtuvieron por hidrodestilación, y se evaluó la actividad antioxidante mediante el método de ácido 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS); los fenoles totales se determinaron mediante Folin-Ciocalteu. La densidad, flavonoides totales, índice de refracción, el mapeo Raman y propiedades térmicas, se identifican por cromatografía líquida (UHPLC-DAD), así como los gases acoplados a un detector de masas (GC-MS). Encontraron que el aceite esencial de mandarina y de limón dulce presentaron mayor capacidad antioxidante siendo del (89,63%; 72,92%, por DPPH) y ABTS (1592,38 μmol TE/g; 1216,13 μmol TE/g). Los fenoles totales fueron de 680,78 mg AGE/g y los flavonoides 23,18 mg QE/g, predominando el aceite de limón El D-limoneno, el psoraleno, las cumarinas, ác. p-cumárico tienen potencial antioxidante, cuyo uso estaría ligado al empleo en como saborizantes o aditivos para productos médicos y cosméticos.

Marreros Castañeda, (2020) en su tesis determinó el contenido de flavonoides y compuestos fenólicos por HPLC-DAD en los extractos foliares de *Prunus pérsica*, *Citrus sinensis* y *Citrus limetta*, se empleó el método de HPLC-DAD Hitachi Chromaster empleando un detector 352 nm y un volumen de inyección 10 μL, el ácido clorogénico en flores de *Citrus sinensis* fue 2.46 mg, infusión 2.74 mg y decocto 2.51 mg, en *Prunus pérsica* fue 22 mg, infusión 33.79 mg y decocto 27.92 mg/g, en cuanto a rutina el contenido en *Citrus sinensis* fue 2.65 mg, infusión 3.03 mg, decocto 2.45 mg, en *Citrus limetta* extracto metanólico 4.59 mg, infusión 6.69 mg y decocto 6.59 mg y en *Prunus pérsica* extracto metanólico 2.49 mg, infusión 2.72 mg y decocto 2.59 mg y para quercetina en *Citrus sinensis* extracto metanólico 507.29 μg, infusión 355.41 μg, decocto 320.21 μg, en *Citrus limetta* extracto metanólico 1576.81 μg, infusión 318.72 μg, decocto 610.61 μg, y en *Prunus pérsica* extracto metanólico 1162.95 μg, infusión 1666.02 μg y decocto 1234.94 μg/g de muestra seca. Se encontró una fuente elevada en flavonoides y compuestos fenólicos.

Luque Cutipa & Mendiguete García, (2019) en su tesis se propusieron investigar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de la cáscara de lima frente a *S. aureus*.

Utilizaron el método del agar Mueller-Hinton, la concentración de colonias de *S. aureus* mediante la escala de MacFarland, los discos fueron embebidos con 100 uL de los tratamientos. Donde se dividieron: G1 etanol 96%, G2 ciprofloxacino 200 mg, G3 Extracto 100%, G4 extracto 50%, G5 extracto 25%. Los discos fueron colocados sobre la placa petri conteniendo agar y se incubaron a 37 °C durante 24 horas, finalmente se midieron los diámetros de los halos. El ciprofloxacino mostró halos de 4,82 mm, siendo el extracto a 50% no significativo. El extracto mostró contenes taninos, flavonoides, cardenólidos, esteroides y/o triterpenoides. Se concluyó que la muestra vegetal cascara de lima tiene efecto antibacteriano.

### **Marco teórico**

La especie *Citrus limetta* Risso, es un fruto mediterráneo importante en países como Túnez, Marruecos e Italia. Es un árbol de tamaño medio, de hojas grandes ovaladas y dentadas, es aromático cítrico, su fruto es esférico-achatado, con pulpa tierna y amarillenta, jugosa, aromática y acida, con semillas verdes (Ancillo & Medina, 2014).

Taxonómicamente esta planta ha sido clasificada de la siguiente manera (Risso, 1813):

Reino: Plantae (Plantas)  
División: Magnoliophyta (Plantas con flor)  
Clase: Magnoliopsida (Dicotiledóneas)  
Orden: Sapindales  
Familia: Rutaceae (Rutáceas)  
Género: Citrus  
Especie: Citrus limetta

Es importante tener en cuenta que *Citrus limetta* es un cítrico que, al madurar sus frutos degradan sus azúcares. Una alta acidez, y los frutos inmaduros le dan un sabor ácido. Los niveles muy bajos de acidez se presentan en los frutos muy maduros y se pierde el sabor característico. En los limones, una acidez alta es muy importante. Algunas variedades la acidez esta entre 5 y 7% (principalmente ácido cítrico), en cambio en las naranjas es del 1% (None, 2018).

Tradicionalmente se ha utilizado para tratar la gripe y los resfriados. Es antirreumático, antiviral, antiséptico y tonificante de piel, circulación y fiebre. (Vargas, et al, 2018)

De acuerdo con Vargas C. et al. (2018) refieren que dentro de los compuestos como flavonas, flavonoides y multifuncionales, limoneno, pinenos, canfeno, sabineno, citral, cimeno, cineoles y linalol son abundantes que en otras variedades. Dentro de sus actividades biológicas tiene propiedad antiinflamatoria, hipoglucemiante, hipocolesterolemia, antitrombótica, antimicrobiana, antihipertensiva y diurética.

Martínez, (2020). Se obtiene por destilación con vapor, por destilación seca, o por extrusión en frío. Otra forma de definición de un aceite esencial indica que es una mezcla de sustancias volátiles, y es un metabolito secundario de las plantas, conteniendo hidrocarburos terpenos, siendo aromáticos, y volátiles.

Martínez, (2020), reporta que según la farmacopea los aceites esenciales pueden estar sujetos a un tratamiento posterior. Pudiendo ser comercializados como desterpenados, desesquiterpenados o rectificados o esencial sin X.

- Un aceite desterpenado no contiene hidrocarburos monoterpénicos.
- Un aceite desterpenado y desesquiterpenado no contiene hidrocarburos mono y sesquiterpénicos.
- Un aceite rectificado tiene un proceso adicional de destilación fraccionada para eliminar algunos constituyentes.
- Un aceite sin "x" sometida a la eliminación de uno o más componentes.

Los métodos de extracción se describen en la Farmacopea Europea.

- Destilación por vapor: Se obtiene al pasar vapor de agua sobre una materia prima vegetal el vapor y aceite se condensan, luego por decantación, se separa el agua y aceite.
- Destilación en seco: Se obtiene calentando tallos o cortezas, sin añadir agua ni vapor.
- Proceso mecánico (prensado en frío): Consiste en la expresión del aceite del pericarpio y su posterior separación por medios físicos.

Según Malle et al., (2015), las características organolépticas de los aceites esenciales hacen referencia al uso de nuestros cinco sentidos para observar las propiedades físicas de estas sustancias. Estas características son importantes en la evaluación y análisis de aceites esenciales, particularmente en aromaterapia y perfumería. Las características organolépticas de los aceites esenciales son cruciales para su clasificación, control de calidad y uso seguro en diversas aplicaciones, incluidas la aromaterapia, la perfumería y la industria de bebidas y alimentos.

En el ámbito del análisis de los aceites esenciales, el término organoléptico se refiere a la utilizar nuestros cinco sentidos para describir un aceite esencial. Esta descripción considera aspectos como: Aroma, Color, Textura, Viscosidad y sabor (destacando que estos productos no deben ser ingeridos). Siendo el olfato el más importante de los sentidos para la evaluación física de un aceite esencial. Sin embargo, el color, la textura, la viscosidad y el sabor condiciones que pueden revelar importante información sobre la calidad de un aceite esencial. Estos ensayos organolépticos son importantes para determinar la calidad y el beneficio que puede ofrecer un aceite esencial o también cuando se compara el aceite esencial obtenido por 2 o más técnicas diferentes a partir de la misma planta. El examen organoléptico es muy subjetivo, pero no deja de ser una parte muy útil y necesaria durante el análisis de los aceites esenciales. Las pruebas organolépticas pueden ser tan casuales o formales como usted quiera al evaluar los aceites esenciales. (Esencial Oleum, 2021).

*Streptococcus pyogenes* (o estreptococo del grupo A) es responsable de varias infecciones humanas supurativas, de las cuales la faringitis aguda y el impétigo son las más comunes en todo el mundo. Estos patógenos también son responsables de entre 11.000 y 24.000 casos de enfermedades invasivas graves, como la fascitis necrotizante, en los EE. UU. cada año. La cardiopatía reumática, con una prevalencia de al menos 15,6 millones de casos y alrededor de 300.000 muertes cada año, tiene la mayor carga de morbilidad. La capacidad de *S. pyogenes* para persistir en los tejidos infectados se puede atribuir principalmente a la proteína M de la superficie celular, que confiere al estreptococo resistir a la fagocitosis de leucocitos polimorfonucleares en ausencia de anticuerpos específicos del tipo. Una revisión de Lancefield en 1962 describe claramente los estudios realizados durante un período de 35 años que definieron esta molécula como un factor de virulencia importante para la bacteria *S. pyogenes*. (Fischetti et al., 2022).

Los antibióticos tienen muchos mecanismos de acción, entre ellos:

- Inhibir la síntesis de la pared bacteriana.
- Incremento de la permeabilidad de las membranas bacterianas.
- Interrupción de la síntesis de las proteínas bacterianas como el ácido fólico.

Los antibióticos bactericidas causan la muerte bacteriana, mientras que los bacteriostáticos enlentecen su desarrollo. Un antibiótico con actividad bactericida puede mejorar la destrucción de las bacterias cuando las defensas del huésped están alteradas localmente en el sitio de la infección (por ejemplo en la meningitis o la endocarditis) o sistémicamente (por ejemplo en pacientes que están neutropénicos o tienen otro tipo de inmunocomprometidos).

Los antibióticos pueden agruparse en 3 categorías:

- Dependiente de la concentración: la magnitud en que la concentración máxima excede a la CIM.
- Dependiente del tiempo: La concentración de antibióticos supera a la CIM
- Dependiente de la exposición: cantidad del fármaco administrada en relación con la CIM (Werth, 2022).

### **Justificación de la investigación**

Se justifica teóricamente ya que los nuevos conocimientos generados servirán como fuente de consulta para futuras investigaciones, nos proponemos un producto antimicrobiano, poco costosa, como es el aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima” sobre *S. aureus*.

Se justifica de manera metodológica por que aporta con una metodología nueva empleando inductores de la diabetes así mismo se le brindará un nuevo instrumento para recopilar los datos relacionado a evaluar el uso de este producto natural como actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*.

La justificación social se fundamenta en la potencial contribución a la Salud Pública y Bienestar ya que investigar la actividad antibacteriana de la lima puede tener implicaciones

directas en la salud pública al proporcionar información sobre un posible agente antimicrobiano natural que podría contribuir a la prevención y tratamiento de infecciones producidas por *S. aureus*. Además, la lima, como fuente de compuestos activos, puede representar una forma de medicina alternativa o complementaria. Finalmente, si la investigación demuestra la eficacia de la lima contra *Staphylococcus aureus*, podría abrir la puerta al desarrollo de productos comerciales, como medicamentos o desinfectantes basados en extractos de lima, generando oportunidades económicas y empresariales.

### **Problema**

¿Qué efecto tienen el extracto foliar y el aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima” sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro?

## Conceptualización y operacionalización de variables

Definición conceptual de la variable	Dimensiones	Indicadores	Tipo de escala de medición
Aceite esencial de <i>Citrus limetta risso</i> “lima”. Se obtiene a partir de la cáscara o epicarpio del fruto de lima, empleando el método de destilación por arrastre con vapor de agua (Llorens-Molina, 2021)	Concentración del aceite esencial  Muestra 1: 25 % Muestra 2: 50 % Muestra 3: 75 %	1.Composición química 2.Densidad 3.Índice de refracción 4.Índice de acidez 5.Actividad antimicrobiana	Proporción
Extracto foliar de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima”. Extracto fluido, producto final de la preparación de drogas vegetales ( <i>Citrus limetta</i> Risso “lima”), considerando como disolvente el alcohol (Mosquera Tayupanta, 2018)	Concentración del extracto  • <b>120 ug/mL</b> • <b>210 ug/mL</b> • <b>300 ug/mL</b>	1.Composición química 2.Densidad 3.Índice de refracción 4.Índice de acidez 5.Actividad antimicrobiana	Proporción
<b>Efecto antibacteriano contra <i>Staphylococcus aureus</i>.</b> Resultado de la acción de una sustancia que tiene efecto antibacteriano o bactericida por tanto actúa impidiendo el desarrollo de estos microrganismo como es el caso de <i>Staphylococcus aureus</i> ( <b>Diccionario de cáncer del NCI. Instituto Nacional del Cáncer. (2021).</b> )	Grado de efectividad antibacteriana:  • Resistente $\leq 15$ mm  • Intermedio 16- 20 mm  • Sensible $\geq 21$ mm	Halo de inhibición  Comparación con control positivo	Proporción

## **Hipótesis**

### **Hipótesis alternativa:**

Ha= El extracto foliar, como el aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima”, tienen efecto antibacteriano significativo sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro

### **Hipótesis nula:**

Ho= El extracto foliar, como el aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima”, no tienen efecto antibacteriano significativo sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Determinar el efecto antibacteriano del extracto foliar y del aceite esencial del *Citrus limetta* Risso “lima” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro.

### **Objetivos específicos**

1. Determinar las características fisicoquímicas del extracto foliar de *Citrus limetta* Risso “lima”.
2. Determinar las características fisicoquímicas del aceite esencial de la cascara de *Citrus limetta* Risso “lima”.
3. Determinar el efecto antibacteriano del extracto foliar de *Citrus limetta* Risso “lima” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro.
4. Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro.
5. Realizar la comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial y del extracto foliar de *Citrus limetta* Risso, con el efecto antibacteriano del fármaco control positivo ciprofloxacino.

## **6 Metodología**

### **a) Tipo y Diseño de investigación**

#### **Tipo de investigación**

Las investigaciones tienen como uno de los objetivos aportar con información nueva, relevante y de consulta para futuras investigaciones, debido a ello se dice que la investigación es básica (Rodríguez, 2020).

#### **Diseño de investigación**

Nuestro trabajo fue experimental. Bajo este diseño pudimos verificar la potencial actividad antibacteriana, tanto, del extracto de hojas como del aceite esencial de *Citrus limetta* Risso sobre la cepa de *S. aureus* in vitro. En este estudio, manipulamos las condiciones de investigación. (Méndez González et al., 2013)

Diseño experimental con estímulo creciente:

De acuerdo con Calderón Mestanza & Torres Armas, (2014) trabajaremos con 3 grupos problema (tratamientos del 1-4) y 1 grupo testigo (tratamiento 5), con 3 repeticiones por cada grupo:

Grupos experimentales:

Tratamiento 1: Discos con 100 uL de la solución de 300 ug/mL del extracto de *Citrus limetta* Risso.

Tratamiento 2: Discos con 100 uL de la solución de 210 ug/mL del extracto de *Citrus limetta* Risso.

Tratamiento 3: Discos con 100 uL de la solución de 120 ug/mL del extracto de *Citrus limetta* Risso.

Tratamiento 4: Discos de ciprofloxacino para antibiograma

### **b) Población, muestra y muestreo**

#### **Población**

Las poblaciones se catalogan como conjuntos de unidades que pueden ser objetos, características, aseveraciones que son sujetos de la investigación (Arias, et al., 2016). Constituida por colonias *S. aureus*,

#### **Criterios de inclusión**

- Placas de agar Müller-Hinton con macro dilución de *S. aureus* ATCC 25923 conservadas antes, durante y después de la experimentación.

### **Criterios de exclusión**

- Placas de agar Müller-Hinton con macrodilución de *S. aureus* ATCC 25923 deteriorados.

### **Muestra**

Se considera a la muestra como un pequeño grupo de la población los que tienen características similares y se seleccionan para inferir algo sobre la población (Hernández, et al., 2014). Estuvo conformado por 16 placas de agar Müller-Hinton homogenizadas con macro dilución de *S. aureus* ATCC 25923.

### **Técnica de muestreo**

El muestreo fue probabilístico, debido a que todos los miembros de la población pudieron ser seleccionados con la misma probabilidad de participar en el evento (Kinnear y Taylor, 1998).

### **c) Técnicas e instrumentos de investigación:**

#### **Extracción del aceite esencial de *Citrus limetta* risso. “lima”**

Se obtuvo por arrastre con vapor de agua se realizó, según Casado Villaverde, (2018)

- Se cargó el recipiente destilador con 2.5 kg de cáscaras de *Citrus limetta* Risso. “lima” previamente preparada,
- Se colocaron 8 litros de agua destilada en la cámara de generación de vapor de agua,
- Se realizó el armado del equipo colocando todos los tapones y partes adicionales para conformar el equipo de destilación por arrastre de vapor con agua.
- Se ensambló y preparó el equipo.
- Esperamos hasta que el agua empezó a hervir y el vapor comenzó a fluir hacia la cámara de destilación para abrir la llave de paso del agua que

alimenta el condensador, en donde se realizó la condensación del aceite esencial.

- Se colocaron 50 mL de agua en el florentino y se procedió a recibir las gotas del destilado.
- El hidrolato obtenido, se trasladó en un embudo de decantación de 100 mL.
- Se dejó reposar por 1 hora y luego se procedió a separar el aceite esencial en un vaso de precipitados de 50 mL.
- Se realizó el secado del aceite esencial, añadiendo 5 gramos de cloruro de calcio.
- El aceite obtenido fue almacenado en un frasco ámbar, en lugar oscuro y fresco.
- Finalmente se realizó la limpieza del equipo de destilación.

#### **Obtención del extracto fluido de las hojas de *Citrus limetta* Risso. “lima”**

Se realizó por percolación siguiendo las indicaciones de Guerra Corado, (2005).

El procedimiento se realizó tal y como se describe a continuación:

- Se seleccionó un kilogramo de hojas de *Citrus limetta* Risso, que no tengan signos de deterioro o contaminación.
- Estas hojas se lavaron, desinfectaron y secaron a temperatura ambiente por 24 horas sobre papel toalla.
- Transcurridas las 24 horas, las hojas se acondicionaron y se colocaron en estufa de convección para un secado a 45 °C por 6 horas.
- Una vez seca toda la muestra, se sometió a molienda para obtener un polvo grueso que se selecciona a partir del material que queda en el tamiz N° 3.
- Se pesaron 100 gramos de polvo grueso de las hojas de *Citrus limetta* Risso y se colocaron en un vaso de precipitado a 250 mL.
- Se agregó 90 mL de alcohol etílico 70° para realizar el proceso de humectación de la muestra.
- Se armó el equipo de percolación en la forma ya tan conocida.

- Se colocó la muestra de trabajo ya humectada en la cámara de extracción.
- Se realizó la percolación a una velocidad de 30 gotas por minuto.
- El extracto obtenido al término de la percolación se llevó a filtración al vacío.
- El extracto fue almacenado en frascos de vidrio y colocado en refrigeración.

**Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

- Se tararon 3 cápsulas de porcelana bien limpias y secas.
- En cada una se colocaron 10 mL del extracto .
- Se llevaron a evaporación del solvente en Baño María a 70 °C hasta evaporación completa.
- Se colocaron las 3 cápsulas de porcelana en un desecador de vidrio hasta peso constante.
- Se pesaron las 3 cápsulas de porcelana.

La concentración de la muestra se calculó usando la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración del extracto} = \frac{((\text{Peso cápsula} + \text{extracto}) - (\text{Peso cápsula vacía}))}{\text{Peso cápsula}} \times 100$$

**Obtención de la bacteria para el estudio: Labcare, (n.d.).**

La cepa de *S. aureus* KWIK-STIK fue procesada de acuerdo con las instrucciones detalladas en el inserto del producto.

KWIK-STIK: cada unidad de KWIK-STIK contiene una microesfera de microorganismos liofilizados, una ampolla de líquido para la hidratación y un hisopo de inoculación. Cada uno de los dispositivos estuvieron sellados dentro de bolsas laminadas, las mismas que contenían un desecante y evitar humedad.

Procesamiento del KWIK-STIK: Ver anexo 2

## **Determinación de la actividad antibacteriana del aceite esencial sobre *S. aureus* ATCC 25923.**

Todo el proceso se realizó siguiendo a Ríos Karen & Osos Sebastian, (2023).

### **Preparación y estandarización del inóculo de *S. aureus* ATCC 25923**

Se preparó una suspensión bacteriana en suero fisiológico y se estandarizó en un tubo N° 0.5 haciendo uso de un Nefelómetro de Mc Farland ( $1.5 \times 10^8$  UFC/mL), y se verificó la densidad a 625 nm y a una absorbancia de 0,08-0,13 para el estándar de 0,5 en la escala de McFarland.

### **Preparación de las concentraciones del aceite esencial de *Citrus limetta* Risso. “lima”.**

Simultáneamente se prepararon las diferentes concentraciones de aceite esencial utilizando Tween 80 al 0.1%. Las concentraciones que se trabajaron fueron al 25%, 50%, 75% más un control sin aceite esencial.

### **Método de Kirby Bauer.**

Sobre una placa con agar Müller-Hinton, se inoculó 0.1 mL de la suspensión, sembrándose por el método de superficie, con un asa de Drigalsky. Con una saca bocados se hicieron pocillos de seis mm de diámetro, y se agregó a cada pocillo 50µl de los tratamientos. Se incubaron las placas durante 24 horas a 37 °C. Se midieron los halos de inhibición de cada muestra.

### **Determinación de la actividad antibacteriana del extracto fluido de las hojas de *Citrus limetta* risso. “lima” sobre *S. aureus* ATCC 25923.**

En términos generales el procedimiento a seguir se realizó de similar manera al procedimiento seguido para el aceite esencial.

### **Instrumento:**

Los resultados se colocarán en la hoja de recolección de datos (Anexo 2)

#### d) Procesamiento y análisis de la información

El procesamiento y análisis estadístico busca describir las características de los datos obtenidos, así como demostrar la hipótesis (Valderrama, 2015). Se calculará la media de los halos de inhibición, que se obtengan y se presentarán en tablas y gráficos. Los resultados se evaluarán con programa estadístico SPSS versión 23. Se consideró una  $p < 0.05$  con una confiabilidad del 95%.

## 7 Resultados

**Tabla 1**

*Características fisicoquímicas del extracto hidroalcohólico de las hojas de Citrus limetta Risso "lima".*

<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>
Sabor	Astringente
Color	Marrón
Olor	Cítrico
Aspecto	Transparente
pH	$5.26 \pm 0.053$
Brix	$2.283 \pm 0.085$
IR	$1.8 \pm 0.1$
Solidos solubles (g%)	$2.62 \pm 0.072$

En la tabla 1 se presentan las características organolépticas, físicas y químicas del extracto de las hojas de *Citrus limetta* Risso "lima". De dicha tabla se deriva que el extracto es marrón, transparente, astringente y con olor cítrico. También se presentan los valores promedios para cada una de las pruebas realizadas al extracto, lo cual permite la caracterización del extracto, cuyo resultado general es que el extracto es ácido (pH 5.26), con 2.283 °Brix, un IR de 1.8 y una concentración de 2.62 g%.

**Tabla 2**

*Características fisicoquímicas del aceite esencial de Citrus limetta Risso “lima”.*

<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>
Sabor	Picante
Color	Amarillo pálido
Olor	Cítrico
Aspecto	Transparente
pH	6.16 ± 0.1015
Densidad	1.461033 ± 0.00986425
IR	1.461033 ± 0.00986425
Solubilidad en etanol	1:100

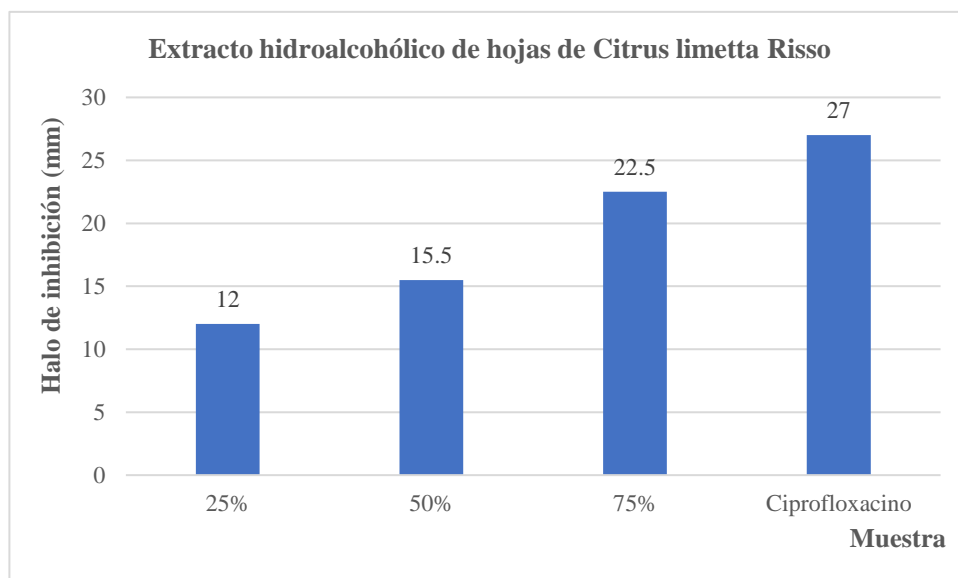
En la tabla 2 se presentan los caracteres organolépticos fisicoquímicos del aceite esencial de las hojas de *Citrus limetta* Risso “lima”. De dicha tabla se deriva que el aceite esencial es amarillo pálido, transparente, picante y con olor cítrico. También se presentan los valores medios para cada una de las pruebas realizadas al extracto, lo cual permite la caracterización del aceite esencial, cuyo resultado general es que es ligeramente ácido (pH 6.16), con 0.8587 de densidad, un IR de 1.478 y una solubilidad en etanol de 1:10.

**Tabla 3**

Diámetros promedio de los halos de inhibición antibacteriana del aceite esencial de “lima” y Ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Concentración de <i>Citrus limetta</i> Risso	Halo de inhibición (mm)	
	Aceite esencial de <i>Citrus limetta</i> Risso	Ciprofloxacino
	$\bar{X}$ (mm) $\pm$ DS	$\bar{X}$ (mm) $\pm$ DS
25%	12 + 1.414213562	
50%	15.5 + 1.643167673	
75%	22.5 + 2.25831796	
<b>Ciprofloxacino</b>		27 + 2

En la Tabla 3 se presentan los promedios de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima” sobre *S. aureus*. Son los promedios de 5 repeticiones para cada concentración del aceite esencial en estudio. También se presenta el resultado promedio de la actividad antibacteriana del antibiótico de referencia que en este caso fue el Ciprofloxacino en 5 repeticiones, siendo el diámetro promedio de inhibición de 27 mm, quedando establecido, para esta investigación, que el Ciprofloxacino tiene actividad anti *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Sensible:  $\geq 17$  mm), en este estudio in vitro.



**Figura 1.** Representación gráfica de los diámetros promedio de los halos de inhibición antibacteriana del aceite esencial de “lima” y el antibiótico patrón Ciprofloxacino sobre *S. aureus*.

En la Figura 1 se presentan, de manera gráfica, los promedios de la actividad antibacteriana del aceite esencial de “lima” a diferentes concentraciones, sobre *S. aureus*. Son los promedios de 5 repeticiones para cada concentración del aceite esencial en estudio. También se presenta el resultado promedio de la actividad antibacteriana del antibiótico de referencia que en este caso fue el Ciprofloxacino en 5 repeticiones, con un diámetro promedio de inhibición de 27 mm, quedando establecido, para esta investigación, que el Ciprofloxacino tiene actividad anti *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Sensible:  $\geq 17$  mm), en este estudio in vitro.

**Tabla 4**

*Evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de Citrus limetta Risso "lima" y Ciprofloxacino sobre S. aureus.*

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>					
		Estadístico de			
		Levene	gl1	gl2	Sig.
Diámetro	Se basa en la media	1,057	3	20	,389
	Se basa en la mediana	,899	3	20	,459
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	,899	3	18,299	,460
	Se basa en la media recortada	1,046	3	20	,394

#### ANOVA

Diámetro	Suma de	Gl	Media	F	Sig.
	cuadrados		cuadrática		
Entre grupos	823,500	3	274,500	79,565	,000
Dentro de grupos	69,000	20	3,450		
Total	892,500	23			

#### Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Diámetro

HSD Tukey

(I) Muestra	(J) Muestra	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Ciprofloxacino	25%	15,00000*	1,07238	,000	11,9985	18,0015
	50%	11,50000*	1,07238	,000	8,4985	14,5015
	75%	4,50000*	1,07238	,002	1,4985	7,5015

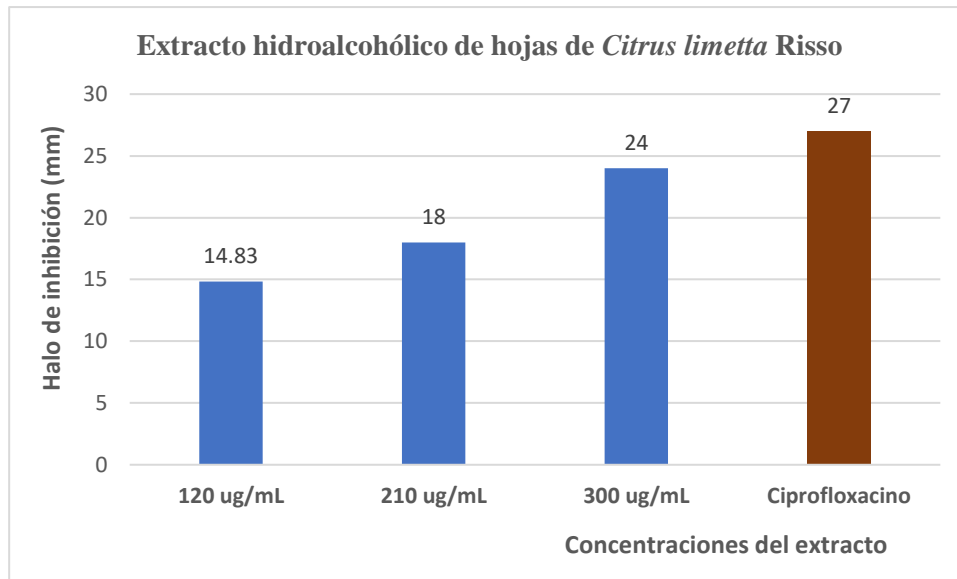
\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

**Tabla 5**

Diámetros promedio de los halos de inhibición en la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Citrus limetta* Risso “lima” y Ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Concentración de <i>Citrus limetta</i> Risso	Halo de inhibición (mm)	
	Extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Citrus limetta</i> Risso	Ciprofloxacino
	$\bar{X}$ (mm) $\pm$ DS	$\bar{X}$ (mm) $\pm$ DS
120 ug/mL	14.83 + 1.940790217	
210 ug/mL	18 + 1.897366596	
300 ug/mL	24 + 3.898717738	
Ciprofloxacino		27 + 2

En la Tabla 4 se presentan los promedios de 5 repeticiones para cada concentración del extracto en estudio. También el resultado promedio de la actividad antibacteriana del antibiótico de referencia que en este caso fue el Ciprofloxacino en 5 repeticiones, siendo el diámetro promedio de inhibición de 27 mm, quedando establecido, para esta investigación, que el Ciprofloxacino tiene actividad anti *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Sensible:  $\geq$  17 mm), en este estudio in vitro.



**Figura 2.** Representación gráfica de los diámetros promedio de los halos de inhibición antibacteriana del extracto hidroalcohólico de lima y el antibiótico patrón Ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

En la Figura 1, se observa los promedios de 5 repeticiones para cada concentración del extracto en estudio. También se presenta el resultado promedio de la actividad antibacteriana del antibiótico de referencia que en este caso fue el Ciprofloxacino en 5 repeticiones, siendo el diámetro promedio de inhibición de 27 mm, quedando establecido, para esta investigación, que el Ciprofloxacino tiene actividad anti *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Sensible:  $\geq$  17 mm), en este estudio in vitro.

**Tabla 6**

*Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico “lima” y Ciprofloxacino sobre S. aureus.*

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>					
		Estadístico de			
		Levene	gl1	gl2	Sig.
Diametro	Se basa en la media	3,869	3	20	,025
	Se basa en la mediana	3,220	3	20	,045
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	3,220	3	16,253	,050
	Se basa en la media recortada	3,873	3	20	,025

<b>ANOVA</b>					
Diametro					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	552,125	3	184,042	27,710	,000
Dentro de grupos	132,833	20	6,642		
Total	684,958	23			

### **Comparaciones múltiples**

Variable dependiente: Diametro

HSD Tukey

(I) Muestra	(J) Muestra	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Ciprofloxacino	Concentración 1	12,16667*	1,48791	,000	8,0021	16,3312
	Concentración 2	9,00000*	1,48791	,000	4,8354	13,1646
	Concentración 3	3,00000	1,48791	,215	-1,1646	7,1646

\*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

## 8 Análisis y discusión

La tabla-1, muestra los resultados de los análisis físico-químicos, que se muestran en la puede establecer que el extracto hidroalcoholico de las hojas de *Citrus limetta* Risso es un producto transparente, de color marrón, con olor cítrico y de sabor astringente; resultados que no necesitan mayor explicación pues el color verde de las hojas se pierde un poco durante el secado y luego con el calentamiento, el olor cítrico que presenta el extracto es característico a las frutas cítricas por su contenido en aceite esencial rico en citral. Por otro lado, el pH de 5.26 muestra que el extracto es ligeramente ácido, hecho que probablemente se debe al contenido de ácido cítrico en las especies del género citrus (Suri et al., 2022). Otro parámetro físico del extracto en estudio es 2.283 °Brix, este parámetro nos da una idea de la concentración de azúcar. Entonces este valor lo podemos correlacionar con el valor de solidos solubles calculados por titulación 2.62 g%, lo cual no es muy diferente. Siendo la concentración del extracto oscila alrededor de 2.45 g% (Chi et al., 2019). Finalmente, determinar que el índice de refracción del extracto es 1.8, es importante porque permite consolidar la determinación de la concentración del extracto en escala piloto e industrial, donde el volumen del extracto es grande, hecho que resulta muy práctico y rentable al utilizar el índice de refracción para evaluar la concentración del extracto (Suri et al., 2022).

En la tabla 2, se presentan los caracteres organolépticos, físicas y químicas del aceite esencial de las hojas de *Citrus limetta* Risso “lima”. Según la tabla el aceite esencial es amarillo pálido, transparente, de sabor picante y con olor cítrico. Resultados que son los que regularmente se encuentran al realizar la determinación los características organolépticas de un aceite esencial (Chi et al., 2019) También los valores promedios para cada prueba realizada al aceite esencial, lo cual permite la caracterización del aceite esencial, cuyos resultados determinan que es ligeramente ácido (pH 6.16), con 1.0277 g/mL de densidad, un IR de 1.461033 y una solubilidad en etanol de 1:10. Al comparar estos valores de 1.0022 g/mL y de 1.468 para la densidad y un índice de refracción respectivamente reportados por Vásquez Gómez, (2023), observamos que solo hay una muy pequeña diferencia, prácticamente de 7 milésimos para el IR y de 5 milésimos en la densidad. En cuanto a su pH ligeramente ácido y a la solubilidad en etanol no se han encontrado reportes específicos y solo podemos afirmar, que este aceite esencial es ligeramente ácido (pH 6.16) y soluble en

etanol a la proporción 1/100.

Determinamos los halos de inhibición del aceite esencial de *Citrus limetta* Risso a la dilución del 25% es 12 mm. Al comparar este resultado con CLSI (Clinical and Laboratory Estándar Institute, 2019) que reporta que, para el ciprofloxacino, los halos de inhibición  $\leq 15$  mm deben considerarse como resistente. Halos de inhibición de 16.5 mm demostró que el aceite esencial en investigación al 50% tiene una acción intermedia, pues según CLSI la formación de halos dentro del rango de 16 a 20 mm se considera acción intermedia. El aceite al 75% reporto halos de 22.5 mm. Al comparar todos estos valores con CLSI que considera sensible la formación de halos de inhibición  $\geq 21$  mm, entonces el aceite esencial de *Citrus limetta* Risso “lima”, claramente tienen acción antibacteriana sobre la cepa de *Staphylococcus aureas* ATCC 25923.

En la misma Tabla 3, se observa que el medicamento ciprofloxacino origina un halo de inhibición de 27 mm. siendo los valores normales de CLSI sensibles los que están  $\geq 17$ mm, por tanto se aprecia efectividad similar al Ciprofloxacino sobre *Staphylococcus aureas* ATCC 25923. Estos resultados al ser evaluados estadísticamente con la prueba de ANOVA que se muestra en la tabla 4, muestran que hay una diferencia estadísticamente significativa  $< 0.05$  entre grupos e intragrupos con un F de 79.565 y un nivel de significancia menor a 0.05.

La tabla 3 también muestra que se ha considerado la prueba de homogeneidad que demuestra que la muestra es homogénea aceptando la hipótesis nula que establece que las varianzas son homogéneas pues el nivel de significancia es mayor de 0.05. Estos valores y el ANOVA al ser comparados con los resultados obtenidos con la prueba de HSD Tukey confirma que la diferencia de medias es significativa en el nivel de 0.05.

De acuerdo con Bhatti et al., (2022) la investigación que busca encontrar moléculas o productos que tengan actividad antimicrobiana es muy importante en la actualidad, pues el extenso uso de antibióticos y vacunas para contrarrestar las infecciones microbianas puede resultar nociva a largo plazo para las personas y para el medio ambiente. Frente a esta problemática, tenemos a las plantas con efecto antimicrobiano, con la peculiaridad de ser una opción sin efectos secundarios negativos ni daños al medio ambiente. Según los resultados obtenidos en nuestra investigación, que demuestran la actividad antibacteriana

del aceite esencial de *Citrus limetta* Risso, tenemos que estar de acuerdo con los investigadores Bhatti et al., (2022) pues en su revisión, reportan que sus efectos antimicrobianos se deben a los compuestos limoneno, timoquinona, pineno, p-cimeno y canfeno, entre otros. Los autores antes mencionados nos dicen que el efecto de estos compuestos antibacterianos consiste en alterar la membrana celular de los microorganismos, inhibir la división celular y su capacidad de formar biopelículas sobre las células bacterianas reduciendo la cantidad de microorganismos.

Adicionalmente, una gran cantidad de investigaciones sobre aceites esenciales han confirmado que estos productos poseen una actividad antibacteriana significativa. Diversas investigaciones han evaluado la actividad antibacteriana de diversos aceites esenciales contra diferentes bacterias, empleando métodos como la difusión en agar y la dilución en pozo para evaluar su actividad contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. Estos estudios han revelado que ciertos aceites esenciales, como el de tomillo, han mostrado una actividad antibacteriana promisorio, con Mínimas Bactericidas (CMB), Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) y que pueden ser tan bajas como 0,1%. Además, se ha observado que la composición química de estos aceites, rica en compuestos monoterpénicos como el timol, influye en su efectividad antibacteriana. Por lo tanto, los aceites esenciales representan una alternativa natural con un gran potencial en el control antimicrobiano debido a la resistencia creciente de los microorganismos a los antibióticos y otros compuestos (Das, S et al, 2021).

También determinamos que el diámetro promedio del halo de inhibición por actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Citrus limetta* Risso a la concentración de 120 µg/mL es 14.83 mm. Al comparar este resultado con CLSI que dice que, para ciprofloxacino, los halos de inhibición  $\leq 15$  mm deben considerarse como resistente. Halos de inhibición de 18 mm, demostró que el extracto a 210 µg/mL tiene una acción intermedia, pues según CLSI la formación de halos de inhibición dentro del rango de 14 a 16 mm se considera acción intermedia. Halos de inhibición de 14 mm con extracto a 300 µg/mL considera sensible ya que los halos  $\geq 21$  mm, muestra acción antibacteriana sobre *S. áureas*.

Al igual que el análisis realizado para el aceite esencial, tenemos que el medicamento Ciprofloxacino origina una inhibición de 27 mm. que según CLSI se debe considerar como sensible, halos de inhibición  $\geq 24$  mm, muestran que el aceite de lima tiene una efectividad

similar al Ciprofloxacino sobre *Staphylococcus áureas* ATCC 25923. Estos resultados al ser evaluados estadísticamente con la prueba de ANOVA que se muestra en la tabla 6, muestran que hay una diferencia estadísticamente significativa  $< 0.05$  entre grupos e intragrupos con un F de 27.710 y una significancia menor a 0.05 (0.000).

La tabla 6 también muestra que se ha considerado la prueba de homogeneidad que demuestra que la muestra es homogénea, entonces, estos valores y el ANOVA al ser comparados por la prueba de HSD Tukey confirmando una diferencia de medias significativa de 0.05.

El extracto de lima a 300 ug/mL, que mostro un halo de inhibición de 24 mm frente a *S. aureus*. Este efecto, de acuerdo con Luque Cutipa & Mendiguete García, (2019) además se identificó que el extracto contenía esteroides, taninos, cardenólidos, flavonoides, esteroides, triterpenoides confirmando la actividad antibacteriana.

## 9 Conclusiones y recomendaciones

### Conclusiones:

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Citrus limetta* Risso “lima” es de color marrón, astringente, olor cítrico, transparente, con un pH de 5.26, Un índice de refracción de 1.8, una concentración de 2.62 g% y 2.283 °Brix.
2. El aceite esencial de la cascara del fruto de *Citrus limetta* Risso “lima” de de color amarillo pálido, de sabor picante, con olor cítrico y transparente. Tiene un pH de 6.16, una densidad de 0.8587, un índice de refracción de 1.478 y una solubilidad de 1:10.
3. Solamente el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Citrus limetta* Risso “lima” a la concentración de 300 u/mL tiene actividad significativa (Halo de inhibición de 24 mm) sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro.
4. Solamente el aceite esencial de las cáscaras del fruto de *Citrus limetta* Risso “lima” a la dilución de 75 % tiene actividad antibacteriana significativa (Halo de inhibición de 22.5 mm) sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro.
5. El halo de inhibición del ciprofloxacino es de 27 mm.
6. El efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro del aceite esencial (22.5 mm) y del extracto foliar (24 mm) de *Citrus limetta* Risso, en términos absolutos es ligeramente menor que el del ciprofloxacino (27 mm).

La evaluación estadística nos confirma que solamente ha estas concentraciones y diluciones el efecto antibacteriano del fármaco control positivo ciprofloxacino es significativo al comparar con el rango establecido por el CLSI para este microorganismo y el ciprofloxacino cae en el intervalo sensible.

**Recomendaciones:**

1. Realizar investigaciones más exhaustivas sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial (22.5 mm) y del extracto foliar (24 mm) de *Citrus limetta* Risso, sobre otras cepas de los microorganismos más frecuentes en infecciones no solo particulares, sino nosocomiales.
2. La Universidad San Pedro debería desarrollar productos con extractos o con el aceite esencial de *Citrus limetta* Risso y ponerlos a disposición de la gran cantidad de pacientes afectados por enfermedades microbianas con microorganismos resistentes.

## 10 Referencias bibliográficas

Ancillo, G., & Medina, A. (2014). Los cítricos (1st ed., Vol. 2). Universitat de València, Jardí Botànic.

[https://jardibotanic.org/fotos/pdf/publicacion\\_2\\_84\\_LOS\\_CITRICOS-ESP.pdf](https://jardibotanic.org/fotos/pdf/publicacion_2_84_LOS_CITRICOS-ESP.pdf)

Baca L, & Yábar, A. (2016). *Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de *Foeniculum vulgare* (hinojo), *Cimnopogon citrus* (hierba luisa), *Origanum vulgare* (oregano), *citrus aurantifolia* (limón) y *citrus sinensis* (naranja), frente a cepas estandarizadas de *Streptococcus mutans**. [Tesis pregrado Cirujano Dentista] Universidad Andina del Cuzco, Perú.

<http://repositorio.uandina.edu.pe/handle/UAC/559>

Bhatti, S. A., Hussain, M. H., Mohsin, M. Z., Mohsin, A., Zaman, W. Q., Guo, M., Iqbal, M. W., Siddiqui, S. A., Ibrahim, S. A., Ur-Rehman, S., & Korma, S. A. (2022). Evaluation of the antimicrobial effects of capsicum, *Nigella sativa*, *Musa paradisiaca* L., and *Citrus Limetta*: A Review. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 6. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.1043823>

Bernal, R., & Guzmán, M. (1984). El antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-bauer. *Revista Biomédica*, 3-4.

Briceño J, (2016). *Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Citrus limetta* sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes** (Tesis pregrado) Universidad nacional de Trujillo, Perú. <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9020>

- Buyukkurt, O. K., Guclu, G., Kelebek, H., & Selli, S. (2019). Characterization of phenolic compounds in sweet lime (*Citrus Limetta*) peel and freshly squeezed juices by LC-dad-ESI-MS/MS and their antioxidant activity. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(4), 3242. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00246-w>
- Calderon Mestanza, J., & Torres Armas, E. (2014). Efecto del extracto acuoso de la *Ocimum basilicum* L. (albahaca) en el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli*. *Revista Eciperu*, 10(2), 38. <https://doi.org/10.33017/reveciperu2013.0018/>
- Carmona Fernández, R., López Hernández, O. D., & Gonzáles Sanabia, M. L. (2009). Relación entre índice de refracción y sólidos totales en extractos acuosos de *Calendula officinalis* L. (caléndula) y *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 14(3), 23–28.
- Casado Villaverde, I. (2018). Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor (thesis). Universidad Politécnica de Madrid, Madrid. [https://oa.upm.es/49669/1/TFG\\_IRENE\\_CASADO\\_VILLAVERDE.pdf](https://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf)
- Cecchini, M. E., Roma, D. A., Pussetto, L., Iglesias, D., Basualdo, M. C., Aiassa, D. E., & Mañas Torres, F. J. (2018). Evaluación in vitro de las actividades antimicrobiana, Antioxidante y Protectora del Adn, de un extracto Etanólico de Romero (*rosmarinus officinalis* L.). *Analecta Veterinaria*, 38(2), 2–3. <https://doi.org/10.24215/15142590e026>
- Cheung, G. Y., Bae, J. S., & Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547–569. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1878688>

Chi, P. T., Van Hung, P., Le Thanh, H., & Phi, N. T. (2019). Valorization of citrus leaves: Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oils. *Waste and Biomass Valorization*, 11(9), 4849–4857.

<https://doi.org/10.1007/s12649-019-00815-6>

Das, S., Das, A., Bhavya, T., Rama Nivashini, S., Bindhu, J. Molecular diagnostics and evaluation of antibacterial activity of citrus limetta on textiles (2021) *Man-Made Textiles in India*, 49 (6), pp. 197-202.

<https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0->

[85143203804&origin=inward&txGid=1be7575d887745578cac49227a220a4e](https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85143203804&origin=inward&txGid=1be7575d887745578cac49227a220a4e)

Dirección Europea para la Calidad del Medicamento y la Asistencia Sanitaria del Consejo de Europa (EDQM), & (CD-P-SC), Comité para la Protección de la Salud de los Consumidores, Guía sobre aceites esenciales en productos cosméticos 5–6 (2018). Madrid, España; Consejo de Europa.

[https://www.aemps.gob.es/publicaciones/publica/docs/Guia\\_Aceites\\_Esenciales.pdf](https://www.aemps.gob.es/publicaciones/publica/docs/Guia_Aceites_Esenciales.pdf)

Dutta, T Narendra N, & Ghosh M D, (2020). Síntesis verde de nanopartículas de plata antibacterianas y antifúngicas de *Citrus limetta*, India (Revista de ingeniería ambiental) vol8bn4

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2213343720303675#>

Essential Oleum. (2021, June 13). Examen organoléptico de los Aceites Esenciales.

<https://essentialoleum.com/aromaterapia/examen-organoleptico-de-los-aceites-esenciales/>

Fischetti, V. A., & Fischetti, V. (2022). Proteína M y otras proteínas de superficie en *Streptococcus pyogenes*. In S. Ferretti (Ed.), *Streptococcus pyogenes: desde la biología básica hasta las manifestaciones clínicas* (1st ed., Vol. 1). essay, Centro de Ciencias de la Salud de la Universidad de Oklahoma. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK587116/>

Guerra Corado, A. E. (2005). Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de calahuala (*phlebodium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio (tesis). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf>

Guitart, R., & Giménez, N. (2012). ¿Qué es un «tóxico»? Una propuesta de definición. *Medicina Clínica*, 138(3), 127-132. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2011.02.002>

Gonzales D., K., Salazar S., M. E., & Fuertes R., C. M. (2022). Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* Griseb. “Muña” y *Piper carpunya* Ruiz & Pav. “Pinku”. *Ciencia e Investigación*, 24(2), 21–26. <https://doi.org/10.15381/ci.v24i2.22522>

Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, P. (2006). *Metodología de la Investigación*. México: Mc Graw Hill.

Hernández, R., Fernández, C y Baptista, M. (2014). *Metodología de la investigación sexta edición*. México D.F, México: McGRAW –HILL.

Kinncar, C y Taylor, R. (1998). *Investigación de mercados*. México. Mc. Graaw Hill.

Instituto Regional de Estudios de Sustancias Tóxicas. (2021). Tóxico (p. 20). Costa Rica: Universidad Nacional de Costa Rica.

Labcare, L. (n.d.). Staphylococcus aureus ATCC 25923 Microbiologics (USA). Labcare de Colombia S.A.S. [https://www.labcarecolombia.com/shop/mb-0360pa-staphylococcus-aureus-atcc-25923-microbiologics-usa-15323?search=Staphylococcus%2Baureus%2BATCC%2B25923&order=website\\_sequence%2Basc#attr=](https://www.labcarecolombia.com/shop/mb-0360pa-staphylococcus-aureus-atcc-25923-microbiologics-usa-15323?search=Staphylococcus%2Baureus%2BATCC%2B25923&order=website_sequence%2Basc#attr=)

León Gonzáles, O., & Santos Villegas, R. (2019). elaboración, formulación y poder antioxidante de barras de harina de cascara de limón (*Citrus limon*), Lima (*Citrus limetta*) y semilla de girasol (*Helianthus annuus*) con alto contenido de fibra alimentaria (Tesis). Facultad de Bromatología y Nutrición, Huacho.

Luque Cutipa, V.R. & Mendiguete García, M.C. (2019). Actividad Antibacteriana In Vitro Del Extracto Etanólico De La Cáscara De *Citrus Limetta* Risso (Lima) Frente A *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923. (Tesis). Universidad Interamericana, Lima.

Llorens-Molina, J. A. (2021). Los aceites esenciales y su actividad biológica: Una propuesta didáctica. *Anales de Química*, 117(2), 166.  
<https://dialnet.unirioja.es/download/articulo/8109675.pdf>

Malle, B., Schmickl, H., Lehmann, P., & Malle, B. (2015). The Essential Oil Maker's handbook: Extracting, Distilling & Enjoying Plant Essences. Spikehorn

Marreros Castañeda, S. H. (2020). Determinación de flavonoides y ácidos fenólicos por HPLC-DAD en los extractos de las flores de *Citrus sinensis* (naranja), *Citrus limetta*

(lima) y *Prunus pérsica* (durazno) (Tesis). Universidad Católica los ángeles de Chimbote, Chimbote.

Martínez, A. (14 de julio de 2020). *Aceites esenciales*. Obtenido de

[http://www.medinformatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencial esUdeA\\_esencias2\\_48\\_001b.pdf](http://www.medinformatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencial esUdeA_esencias2_48_001b.pdf)

Montero-Recalde, M., Vayas, L., Avilés-Esquivel, D., Pazmiño, P., & Erazo-

Gutierrez, V. (2018). Evaluación de dos Métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la Cepa Certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 29(4), 1544–1545.

<https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15185>

Mosquera Tayupanta, T. de los Á. (2018). Estandarización fitoquímica del extracto de caléndula (*Calendula officinalis*) (Tesis). Universidad Politécnica Salesiana, Quito.

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16149/1/UPS-QT13324.pdf>

Muntané, Jordi. (2024). Introducción a la investigación básica. *RAPD ONLINE*, 33(3), 227.

Narayanankutty, A., Visakh, N. U., Sasidharan, A., Pathrose, B., Olatunji, O. J., Al-Ansari,

A., Alfarhan, A., & Ramesh, V. (2022). Chemical composition, antioxidant, antibacterial, and anti-cancer activities of essential oils extracted from Citrus Limetta Risso Peel waste remains after commercial use. *Molecules*, 27(23), 8329.

<https://doi.org/10.3390/molecules27238329>

None, Y. (2018, April 5). Influir en la acidez de cítricos: Yara Colombia. Yara Knowledge

Grows. <https://www.yara.com.co/nutricion-vegetal/citricos/influir-en-la-acidez->

decitricos/#:~:text=En%20limones%2C%20un%20nivel%20alto,nutrientes%20tie  
nen%20muy%20poco%20efecto

Pastor Navarro, C., & González Martínez, C. (n.d.). Determinación de los sólidos solubles de un alimento con un alto y un bajo contenido en agua. Valencia; Universitat Politècnica de València.

Risso, 1813. Citrus Limetta Risso. GBIF. <https://www.gbif.org/es/species/3190169>

Rodríguez, Daniela. (17 de septiembre de 2020). Investigación básica: características, definición, ejemplos. Lifeder. Recuperado de <https://www.lifeder.com/investigacion-basica/>.

Suri, S., Singh, A., Nema, P. K., Malakar, S., & Arora, V. K. (2022). Sweet Lime (Citrus Limetta) peel waste drying approaches and effect on quality attributes, phytochemical and functional properties. Food Bioscience, 48, 101789. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101789>

Torres O, et al. (2019) Actividad antimicrobiana de nanopartículas de oro sintetizadas con cáscara de lima (*Citrus limetta*). (*Revista de ciencias de la salud*), Guadalajara, México

Vásquez Gómez, K. L. (2023). Caracterización de los aceites esenciales de pieles de cítricos extraídos con solventes verdes (Tesis). Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Chachapoyas.

Werth, B. (2022, May). Manual MSD Para El Profesional. Manual MSD versión para profesionales. <https://www.msmanuals.com/es-co/professional>

Valderrama, S. (2015). Pasos para elaborar proyectos de investigación científica (2.a ed., Vol. 1). Alianza Editorial.

## 11 Agradecimientos

A Dios por haberme dado las fuerzas para poder lograr este tan  
apreciado anhelo.

A mis padres por sus consejos y ejemplo de perseverancia  
durante toda mi vida

A mi compañeros y profesores su apoyo incondicional.

Gracias.

## 12 Anexos

### Anexo 1

Ficha de recolección de datos (instrumento)

#### CARACTERES ORGANOLEPTICOS DEL EXTRACTO

<b>Prueba</b>	<b>Resultados</b>		
<b>Sabor</b>	Astringente	Astringente	Astringente
<b>Color</b>	Marrón	Marrón	Marrón
<b>Olor</b>	Cítrico	Cítrico	Cítrico
<b>Aspecto</b>	Transparente	Transparente	Transparente

#### PRUEBAS FISICAS DEL EXTRACTO

<b>PRUEBA</b>	<b>N° MUESTRA</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>pH</b>	1	5.24
	2	5.32
	3	5.22
<b>°Brix</b>	1	2.25
	2	2.38
	3	2.22
<b>Índice de refracción</b>	1	1.9
	2	1.8
	3	1.7
<b>Solidos solubles</b>	1	2.64
	2	2.68
	3	2.54

## CARACTERES ORGANOLEPTICOS DEL ACEITE ESENCIAL

<b>Prueba</b>	<b>Resultados</b>		
<b>Sabor</b>	<b>Picante</b>	<b>Picante</b>	<b>Picante</b>
<b>Color</b>	<b>Amarillo pálido</b>	<b>Amarillo pálido</b>	<b>Amarillo pálido</b>
<b>Olor</b>	<b>Cítrico</b>	<b>Cítrico</b>	<b>Cítrico</b>
<b>Aspecto</b>	<b>Transparente</b>	<b>Transparente</b>	<b>Transparente</b>

## PRUEBAS FISICAS DEL ACEITE ESENCIAL

<b>PRUEBA</b>	<b>N° MUESTRA</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>pH</b>	1	6.18
	2	6.25
	3	6.05
<b>Índice de refracción</b>	1	1.4641
	2	1.45
	3	1.469
<b>Densidad</b>	1	0.84681
	2	0.8499
	3	0.8794
<b>Solubilidad en etanol</b>	1	1/100
	2	1/100
	3	1/100

Anexo 2

Matriz de consistencia

Problema	Variables	Objetivos	Hipótesis	Metodología
¿Qué efecto tienen el extracto foliar y el aceite esencial de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 in vitro?	<p>VI 1: Aceite esencial de <i>Citrus limetta</i> risso “lima”</p> <p>VI 2: Extracto foliar de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima”</p> <p>V. Dependiente: <b>Efecto antibacteriano contra <i>Staphylococcus aureus</i></b></p>	<p><b>Objetivo general</b> Determinar el efecto antibacteriano del extracto foliar y del aceite esencial del <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” sobre <i>Staphylococcus áureas</i> ATCC 25923 in vitro.</p> <p><b>Objetivos específicos</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Determinar las características fisicoquímicas del extracto foliar de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima”.</li> <li>Determinar las características fisicoquímicas del aceite esencial de la cascara de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima”.</li> <li>Determinar el efecto antibacteriano del extracto foliar de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 in vitro.</li> <li>Determinar el efecto antibacteriano del aceite esencial de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 in vitro.</li> <li>Realizar la comparación del efecto antibacteriano del aceite esencial y del extracto foliar de <i>Citrus limetta</i> Risso, con el efecto antibacteriano del fármaco control positivo ciprofloxacino</li> </ol>	Tanto el extracto foliar, como el aceite esencial de <i>Citrus limetta</i> Risso “lima” tienen un efecto antibacteriano significativo sobre <i>Staphylococcus áureas</i> ATCC 25923 in vitro.	<p>Tipo de Investigación: Básica Cuantitativa Experimental</p> <p>Diseño de investigación: Experimental</p> <p>Muestra: Muestra biológica 1: Frutos <i>Citrus limetta</i> Risso</p> <p>Muestra biológica 2: Hojas de <i>Citrus limetta</i> Risso</p> <p>Metodología:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Obtener el extracto hidroalcohólico de <i>Citrus limetta</i> Risso</li> <li>Obtener el aceite esencial de <i>Citrus limetta</i>.</li> <li>Determinar la actividad antibacteriana de ambas muestras sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 in vitro</li> </ol>

Anexo 3

Base de datos

RESULTADOS ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL

<b>DILUCION</b>	<b>N° DE MUESTRA</b>	<b>HALO DE INHIBICION</b>
<b>25%</b>	1	13
	2	12
	3	12
	4	11
	5	14
	6	10
<b>50%</b>	1	17
	2	18
	3	14
	4	14
	5	15
	6	15
<b>75%</b>	1	24
	2	26
	3	21
	4	20
	5	21
	6	23

# Formato repositorio institucional



## REPOSITORIO INSTITUCIONAL DIGITAL

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN DE DOCUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

1. Información del Autor			
Veldsquez Bravo Luz Hayde'		47510401	sa.sitorio78_123@hotmail.com
Apellidos y Nombres		DNI	Correo Electrónico
2. Tipo de Documento de Investigación			
<input checked="" type="checkbox"/>	Tesis	Trabajo de Suficiencia Profesional	Trabajo Académico
3. Grado Académico o Título Profesional <sup>1</sup>			
<input type="checkbox"/>	Bechiller	<input checked="" type="checkbox"/>	Título Profesional
<input type="checkbox"/>	Título Segunda Especialidad	<input type="checkbox"/>	Maestría
<input type="checkbox"/>	Doctorado		
4. Título del Documento de Investigación			
"Actividad Antimicrobiana del Extracto Foliar y del aceite esencial de citrus limetta "Lima" contra staphylococcus Aereus ATcc 25923"			
5. Programa Académico			
Farmacia y Bioquímica.			
6. Tipo de Acceso al Documento			
<input checked="" type="checkbox"/>	Abierto o Público <sup>2</sup> (info:eu-repo/semantics/openAccess)		Acceso restringido <sup>4</sup> (info:eu-repo/semantics/restrictedAccess) (*)
(*) En caso de restringido sustentar motivo			

### A. Originalidad del Archivo Digital

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador y forma parte del proceso que conduce a obtener el grado académico o título profesional.

### B. Otorgamiento de una licencia CREATIVE COMMONS <sup>5</sup>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Institucional Digital, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento. <sup>6</sup>

Lugar	Día	Mes	Año
Chimbote	13	08	24



  
Firma

### Importante

- Según Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU-CD, Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales, Art. 6, inciso B.2.
- Ley N° 30035, Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto y D.S. 006-2015-PCM.
- Si el autor eligió el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad San Pedro una licencia no exclusiva, para que se pueda hacer arreglos de forma en la obra y difundir en el Repositorio Institucional Digital, Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.
- En caso de que el autor elija la segunda opción, únicamente se publicará los datos del autor y resumen de la obra, de acuerdo a la directiva N° 004-2016-COINCYTEC-DEDC (Numerales 5.2 y 5.7) que norma el funcionamiento del Repositorio Nacional Digital.
- Las licencias Creative Commons (CC) es una organización internacional sin fines de lucro que pone a disposición de los autores un conjunto de licencias flexibles y de herramientas tecnológicas que facilitan la difusión de información, recursos educativos, obras artísticas y científicas, entre otros. Estas licencias también garantizan que el autor obtenga el crédito por su obra.
- Según el inciso 12.2, del artículo 12º del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales-RENATI "Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA".

Nota: - En caso de falsedad en los datos, se procederá de acuerdo a ley (Ley 27444, art. 32, núm. 32.3).

## Reporte de similitud

### Actividad antibacteriana del extracto foliar y del aceite esencial de Citrus limetta Risso "lima" contra Staphylococcus áureas ATCC 25923

#### INFORME DE ORIGINALIDAD

**23%**

INDICE DE SIMILITUD

**22%**

FUENTES DE INTERNET

**0%**

PUBLICACIONES

**5%**

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

#### FUENTES PRIMARIAS

**1**

[hdl.handle.net](http://hdl.handle.net)

Fuente de Internet

**3%**

**2**

[repositorio.unid.edu.pe](http://repositorio.unid.edu.pe)

Fuente de Internet

**3%**

**3**

[repositorio.usanpedro.edu.pe](http://repositorio.usanpedro.edu.pe)

Fuente de Internet

**3%**

**4**

[alicia.concytec.gob.pe](http://alicia.concytec.gob.pe)

Fuente de Internet

**2%**

**5**

[1library.co](http://1library.co)

Fuente de Internet

**1%**

**6**

Submitted to ESIC Business & Marketing School

Trabajo del estudiante

**1%**

**7**

[repositorio.untrm.edu.pe](http://repositorio.untrm.edu.pe)

Fuente de Internet

**1%**

**8**

[www.merckmanuals.com](http://www.merckmanuals.com)

Fuente de Internet

**1%**

9	<a href="http://repositorio.uoosevelt.edu.pe">repositorio.uoosevelt.edu.pe</a> Fuente de Internet	1 %
10	<a href="http://dspace.unitru.edu.pe">dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	1 %
11	<a href="http://www.noticieromedico.com">www.noticieromedico.com</a> Fuente de Internet	1 %
12	<a href="http://repositorio.uma.edu.pe">repositorio.uma.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
13	<a href="http://repositorio.ucv.edu.pe">repositorio.ucv.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
14	Submitted to Cranfield University Trabajo del estudiante	<1 %
15	<a href="http://es.scribd.com">es.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1 %
16	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Fuente de Internet	<1 %
17	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD Trabajo del estudiante	<1 %
18	<a href="http://renati.sunedu.gob.pe">renati.sunedu.gob.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
19	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Fuente de Internet	<1 %
20	<a href="http://www.theibfr.com">www.theibfr.com</a> Fuente de Internet	<1 %

		<1 %
21	Submitted to Universidad Maria Auxiliadora SAC Trabajo del estudiante	<1 %
22	www.sabiia.cnptia.embrapa.br Fuente de Internet	<1 %
23	Submitted to International University - VNUHCM Trabajo del estudiante	<1 %
24	dokumen.pub Fuente de Internet	<1 %
25	Submitted to Universidad Centroamericana Jose Simeon Canas Trabajo del estudiante	<1 %
26	Submitted to Universidad Loyola Andalucia Trabajo del estudiante	<1 %
27	doczz.com.br Fuente de Internet	<1 %
28	publicaciones.usanpedro.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
29	www.prc.cnrs-gif.fr Fuente de Internet	<1 %
30	intra.uigv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %

31	<a href="http://publicaciones.anahuac.mx">publicaciones.anahuac.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
32	<a href="http://repositorio.umsa.bo">repositorio.umsa.bo</a> Fuente de Internet	<1 %
33	<a href="http://www.scribd.com">www.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1 %
34	<a href="http://dspace.ueb.edu.ec">dspace.ueb.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
35	<a href="http://repositorio.uigv.edu.pe">repositorio.uigv.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
36	<a href="http://repositorio.uladech.edu.pe">repositorio.uladech.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
37	<a href="http://repositorio.unapiquitos.edu.pe">repositorio.unapiquitos.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
38	<a href="http://repositorio.unas.edu.pe">repositorio.unas.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
39	<a href="http://sqm.org.mx">sqm.org.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
40	<a href="http://vdocumento.com">vdocumento.com</a> Fuente de Internet	<1 %
41	<a href="http://livrosdeamor.com.br">livrosdeamor.com.br</a> Fuente de Internet	<1 %
42	<a href="http://repositorio.uap.edu.pe">repositorio.uap.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %

43	<a href="http://repositorio.utc.edu.ec">repositorio.utc.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
44	<a href="http://search.bvsalud.org">search.bvsalud.org</a> Fuente de Internet	<1 %
45	<a href="http://theibfr.com">theibfr.com</a> Fuente de Internet	<1 %
46	<a href="http://uprepositorio.upacifico.edu.ec">uprepositorio.upacifico.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
47	<a href="http://www.dspace.uce.edu.ec">www.dspace.uce.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
48	<a href="http://www.dspace.unitru.edu.pe">www.dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
49	<a href="http://www.fleni.org.ar">www.fleni.org.ar</a> Fuente de Internet	<1 %
50	<a href="http://www.grafiati.com">www.grafiati.com</a> Fuente de Internet	<1 %
51	<a href="http://www.vidasilvestre.org.ar">www.vidasilvestre.org.ar</a> Fuente de Internet	<1 %
52	<a href="http://as.com">as.com</a> Fuente de Internet	<1 %
53	<a href="http://docslib.org">docslib.org</a> Fuente de Internet	<1 %
54	<a href="http://200.61.58.137/argentina_editable/Newsletter%20">http://200.61.58.137/argentina_editable/Newsletter%20</a> Fuente de Internet	<1 %

55	<a href="http://repositorio.ug.edu.ec">repositorio.ug.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1%
56	<a href="http://repositorio.unap.edu.pe">repositorio.unap.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1%
57	<a href="http://www.cipav.org.co">www.cipav.org.co</a> Fuente de Internet	<1%
58	<a href="http://www.tdx.cat">www.tdx.cat</a> Fuente de Internet	<1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 6 words

Excluir bibliografía

Activo