Valorization of *Citrus limon* Waste to Reduce Bacterial Load in Contaminated Water: A Circular Economy Proposal

Abstract*– Increasing water pollution and the massive generation of agro-industrial waste threaten public health and sustainability. This research evaluated the valorization of Citrus limon waste using an ethanolic extract to reduce the microbial load of contaminated water, contributing to SDG 6. The methodology included collection, drying, and grinding; extraction by sonication (40 kHz, 55 °C, 90 min) with 99% ethanol (1:4 ratio); and characterization by FTIR and UV-Vis. Tests were conducted using water from the Mochica Canal (Trujillo, Peru), evaluating the extract for turbidity, pH, and bacterial load at 0, 6, 12, and 24 hours. The extract did not show clarifying capacity, but it demonstrated remarkable antimicrobial activity, with reductions of 1.6 log (total bacteria), 2.0 log (E. coli), and 3.8 log (Staphylococcus sp.), equivalent to removals of 97.8%, 99.0%, and 100.0% at 24 h. Spectroscopic characterization revealed functional groups (O-H, C=O, aromatic C=C) characteristic of phenols and flavonoids, hypothesized to be responsible for the activity. In conclusion, the ethanolic extract of C. limon peel represents a promising natural alternative; however, its production requires inputs and equipment (ethanol, sonicator, rotary evaporator, DMSO) that may limit its direct implementation in resource-limited communities. Its feasibility will depend on process optimization and the local availability of these resources~~natural, accessible, and sustainable low-cost alternative, framed within the circular economy and green chemistry, offering a viable solution for communities with limited resources and restricted access to conventional treatment technologies~~.

***Keywords*-- Citrus limon waste, ethanolic extracts, antimicrobial activity, contaminated water treatment, circular economy.**

Valorización de los residuos de *Citrus limon* para reducir la carga bacteriana de aguas contaminadas: una propuesta de economía circular

Resumen– ***La creciente contaminación del agua y la generación masiva de residuos agroindustriales amenazan la salud pública y la sostenibilidad. Esta investigación evaluó la valorización de residuos de Citrus limon mediante un extracto etanólico para reducir la carga microbiana de aguas contaminadas, contribuyendo al ODS 6. La metodología incluyó recolección, secado y molienda, extracción por sonicación (40 kHz, 55 °C, 90 min) con etanol al 99% (relación 1:4), y caracterización por FTIR y UV-Vis. Los ensayos se realizaron con agua del canal Mochica (Trujillo, Perú), evaluando el extracto sobre turbidez, pH y carga bacteriana a 0, 6, 12 y 24 horas. El extracto no mostró capacidad clarificante, pero evidenció notable actividad antimicrobiana, con reducciones de 1.6 log (bacterias totales), 2.0 log (E. coli) y 3.8 log (Staphylococcus sp.), equivalentes a remociones del 97.8%, 99.0% y 100.0% a las 24 h. La caracterización espectroscópica reveló grupos funcionales (O-H, C=O, C=C aromático) propios de fenoles y flavonoides, hipotéticos responsables de la actividad. En conclusión, el extracto etanólico de cáscara de C. limon representa una alternativa natural prometedora, aunque su producción requiere insumos y equipos (etanol, sonicador, rotavapor, DMSO) que pueden limitar su implementación directa en comunidades con recursos limitados. Su viabilidad dependerá de la optimización del proceso y de la disponibilidad local de estos recursos, accesible y sostenible de bajo costo, enmarcada en la economía circular y química verde, ofreciendo una solución viable para comunidades con recursos limitados y acceso restringido a tecnologías convencionales de tratamiento.***

Palabras clave-- Residuos de Citrus limon, extractos etanólico, actividad antimicrobiana, tratamiento de aguas contaminadas, economía circular.

I. Introducción

El cambio climático y el crecimiento de la población están empeorando la calidad del agua en todo el mundo, donde el aumento de las aguas residuales y los desechos de la industria son una de las principales causas que incrementan este problema [1-4]. Una solución a esta problemática es reutilizar el agua, siguiendo los principios de la economía circular, así se cuida el agua y se reduce el daño al ambiente. Para poder reutilizar el agua de forma segura, es necesario que el agua tratada no tenga sustancias químicas ni microbios dañinos que pongan en riesgo la salud pública [5,6]. Esta investigación aporta a las metas del Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS); directamente con la ODS 6: Agua limpia y saneamiento que buscan mejorar la calidad del agua mediante la reducción de vertidos y la reducción de la contaminación [1].

Los métodos convencionales de desinfección del agua, como la cloración así como la coagulación-floculación son eficaces para la reducción de carga microbiana y partículas en suspensión; sin embargo su aplicación puede generar presenta desventajas significativas, tales como la generación de nuevas sustancias tóxicas en el proceso de desinfección [7,8] lo que limitan su uso en comunidades pequeñas o con pocos recursos [8,9]. En este escenario, ha crecido el interés por alternativas naturales y baratas, como los coagulantes y agentes antimicrobianos derivados de plantas [10], los cuales son más fáciles de usar en sistemas sencillos y en comunidades alejadas que requieren menor complejidad tecnológica [11], además el uso de estos nuevos productos se adapta a la idea de "innovación frugal", que busca soluciones prácticas y de bajo costo [12].

La agroindustria de los cítricos produce grandes cantidades de residuos (cáscaras, pulpa y agua de proceso); se estima que los residuos de cáscara de cítricos superan las 23×10^6 toneladas anuales a nivel mundial [13], lo que evidencia la magnitud del problema y el potencial de valorización de este subproducto que con frecuencia se gestionan de forma inadecuada. Esto representa un desafío en la gestión de residuos pero también una oportunidad para la economía circular mediante su valorización como fuente de compuestos bioactivos (aceites esenciales, flavonoides, pectinas y ácidos orgánicos) con potencial coagulante, quelante y antimicrobiano [14,15]. La valorización de estos residuos mediante la obtención de extractos acuosos y/o etanólicos ofrece una vía para convertir un residuo en un insumo funcional para el tratamiento experimental de aguas contaminadas, aportando beneficios ambientales (reducción de residuos) y potenciales económicos (baja toxicidad y uso de subproductos) [16]. Además, la elección del solvente de extracción (agua y/o etanol) modula el perfil fitoquímico y, por ende, la eficacia sobre parámetros fisicoquímicos como pH, turbidez, oxígeno disuelto (OD), conductividad y carga microbiológica (indicadores fecales y patógenos oportunistas) en matrices acuosas [17]. En este sentido, los residuos de cáscara de limón han mostrado poseer capacidades de adsorción inherentes beneficiosas para el tratamiento de aguas residuales [18], lo que refuerza su potencial como material de partida para soluciones de biorremediación.

Estudios sobre coagulantes y desinfectantes naturales han demostrado que extractos vegetales y subproductos pueden reducir significativamente la turbidez en matrices acuosas, generando menores volúmenes de lodo y menor toxicidad que coagulantes sintéticos convencionales. Sin embargo, es escasa la bibliografía que reporte específicamente la disminución bacteriana en un medio líquido utilizando extractos de plantas, debido a que los estudios de los extractos generalmente se han realizado en el área de la salud y la industria de alimentos [19-23]. Antecedentes indican que el extracto de *C. limon* posee

amplio espectro de actividad antibacteriana, atribuida a las diferentes fracciones de la fruta. Por ejemplo, El jugo muestra actividad dependiente de la concentración contra bacterias entéricas y cutáneas (*Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Propionibacterium acnes*) [24,25], y los extractos de cáscara reducen de manera significativa el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en ensayos *in vitro* y modelos alimentarios [26,27]. Estos hallazgos confirman el amplio espectro de acción antimicrobiana de las fracciones de *C. limon* y respaldan su potencial aplicación en sistemas de tratamiento de agua.

A pesar de estos antecedentes, persiste una brecha significativa en el conocimiento respecto al uso directo de extractos provenientes específicamente de residuos (cáscaras) de *C. limon* en los procesos de reducción de la carga bacteriana en aguas residuales y agroindustriales en condiciones de laboratorio. Para contribuir a cerrar esta brecha, el presente estudio propone evaluar la valorización de estos residuos mediante la producción de un extracto etanólico, y determinar su efecto sobre la carga microbiana de aguas contaminadas. Con ello, se busca ofrecer una respuesta a la demanda de tratamientos alternativos, económicos y de menor toxicidad, en el marco de una estrategia integradora de economía circular y gestión sostenible del agua. Se hipotetiza que los extractos etanólicos de residuos de *C. limon* reducirán la carga microbiana y la turbidez del agua, aunque esta capacidad depuradora podría estar modulada por el nivel de contaminación inicial de las muestras, y se espera establecer la relación entre la concentración del extracto y su eficacia desinfectante a escala de laboratorio.

II. Metodologia

A. *Recolección de los residuos de C. limon*

Los residuos de *C. limon* (cáscaras y restos de pulpa) se recolectaron en mercados y restaurantes de la ciudad de Trujillo. Los residuos se recolectaron en bolsas limpias para su posterior trasladó al laboratorio donde se lavaron con agua destilada para eliminar la suciedad y la materia orgánica pegada a la superficie. Posteriormente, se secaron en una estufa a 40 °C durante 3 a 4 días, hasta que la humedad residual quedó entre el 5 y el 10 %. Una vez seco, el material se molió y se pasó por un tamiz de 200 µm para obtener un polvo homogéneo y fino [28]. Este polvo vegetal se guardó en recipientes oscuros y se almacenó a temperatura ambiente hasta su uso.

B. *Obtención del extracto por sonicación*

El extracto se obtuvo mediante proceso de sonicación. Se empleó una relación de 1:4 entre el sólido y el solvente (50 gramos del polvo de cáscara se mezclaron con 200 mL de etanol al 99 %) y las condiciones de extracción se establecieron a 55 °C durante 90 min bajo sonicación constante de 40 kHz. Después de la sonicación, la mezcla se dejó reposar para que sedimentaran las partículas más gruesas, y luego se filtró con papel Whatman N.º 1 para clarificarla. El líquido filtrado se concentró usando un rotavapor (marca ISOLAB) [29,30]. El extracto concentrado se esterilizó por filtración al vacío (filtros de 0,22 µm). El producto estéril obtenido se secó en estufa a 40 °C hasta obtener una pasta. A partir de esta pasta se preparado la solución de trabajo (50 mg/mL) utilizando dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente. Esta solución de trabajo se conservó en refrigeración a 4 °C hasta el momento de los análisis y la experimentación.

C. *Caracterización espectrofotométrica del extracto*

La caracterización espectrofotométrica del extracto se realizó a la solución de trabajo (50 mg/mL) y se analizó mediante dos técnicas. La primera evaluación se realizó por UV-Vis spectroscopy (200–800 nm) para identificar cromóforos y señales asociadas a fenoles y flavonoides, utilizando el equipo UV-Vis Spectrophotometers de la marca thermo scientific; mientras que en la segunda caracterización se realizó por Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy (4000–400 cm^{-1}) para determinar grupos funcionales relevantes (OH, C=O, C–O, aromáticos) utilizando el equipo iS50 FT-IR de la marca thermo scientific [31].

D. *Ensayos experimentales en condiciones de laboratorio*

Para los ensayos de remediación se utilizó una muestra de agua contaminada, recolectada directamente de su fuente natural, canal Mochica, Trujillo, Perú (coordenadas 8°07′54″ S, 79°04′03″ O). Esta muestra presentaba una turbidez de 140 NTU y una carga bacteriana total de 2.5 x 10^4 UFC/mL.

Los ensayos experimentales se realizaron en vasos de precipitación de 250 mL, con un volumen total de trabajo de 200 mL. En cada caso, 180 mL (90 %) correspondían al agua contaminada y 20 mL (10 %) correspondían al tratamiento (agua destilada o extracto a 5 mg/mL). Las muestras se homogenizaron y se evaluaron a las 0, 6, 12 y 24 horas. En cada tiempo de medición se registró el pH, la turbidez (en NTU). Para la evaluación microbiológica, se realizó: i) el recuento total de bacterias en agar PCA (Plate Count Agar), ii) el recuento de estafilococos patógenos en agar MSA (Mannitol Salt Agar), y iii) el recuento de *E. coli* en agar VRBA (Violet Red Bile Agar) [32]. Todas las mediciones se hicieron por triplicado.

La reducción bacteriana se calculó mediante el porcentaje de eliminación, determinado como [(UFC/mL inicial – UFC/mL final) /UFC/mL inicial] × 100, para facilitar la comparación con estudios que presentan resultados en este formato.

Los datos obtenidos se registraron en hojas de cálculo de Microsoft Excel. Allí se calcularon el porcentaje de reducción y la reducción logarítmica de las bacterias para cada tratamiento. Finalmente, los gráficos se elaboraron utilizando el software OriginPro.

En este estudio exploratorio se evaluó una única concentración del extracto (0.5 mg/mL final) con el fin de obtener evidencia preliminar de su efecto antimicrobiano. No se realizó una curva dosis-respuesta, lo cual se reconoce como una limitación y se propone para futuras investigaciones.

III. Resultados y Discusión

La Fig. 1, muestra los resultados de la caracterización espectrofotométrica del extracto de *C. limon* (50 mg/mL). La Fig. 1(a), muestra el espectro de absorción obtenidos mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), esta figura revela bandas características que sugieren la presencia de grupos funcionales como alcoholes/fenoles (3200–3600 cm^{-1}), cadenas alifáticas (2850–2950 cm^{-1}), grupos carbonilo (1700 cm^{-1}), compuestos fenólicos y flavonoides (1600–1500 cm^{-1}), y ésteres o glicósidos (1300–1000 cm^{-1}) [33-37]. Este patrón espectral sugiere una mezcla de compuestos polares y apolares, coherente con la composición conocida de *C. limon*. Por su parte, la Fig. 1(b), muestra el espectro UV-Vis del extracto donde se observa una fuerte absorción en el rango de 300–400 nm, indicando la presencia de cromóforos conjugados típicos de compuestos fenólicos y flavonoides [38-40]. Se identificó un pico característico de hesperidina (284 nm) [41,42], mientras que la baja absorbancia en el visible indica escasa presencia de pigmentos coloreados [43,44].

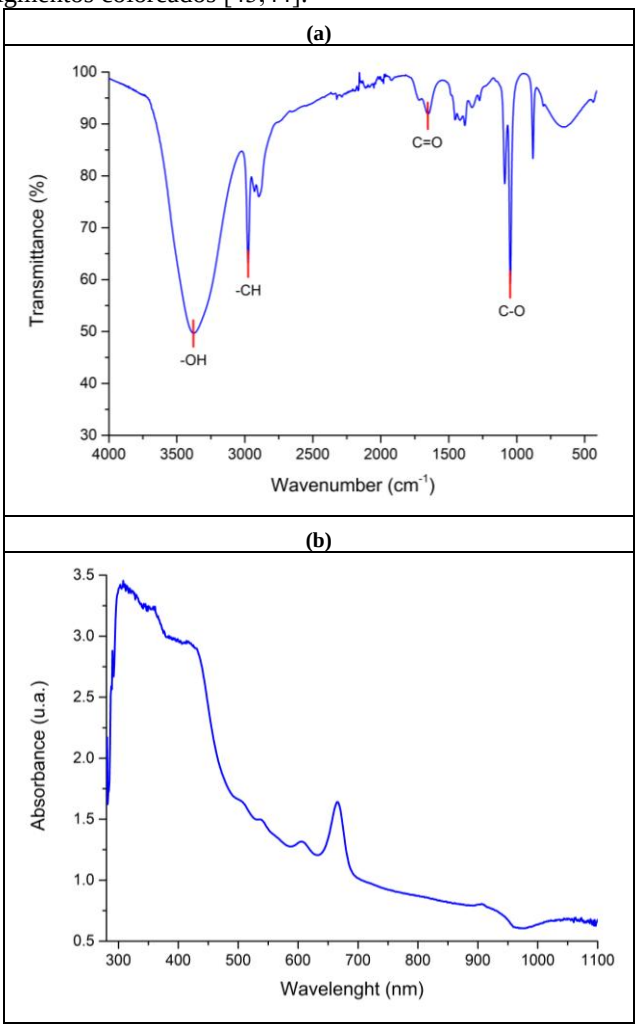


Fig. 1 Caracterización espectrofotométrica del extracto de *C. limon*. (a) Espectros FTIR y (b) Espectro UV Vis (200–800 nm).

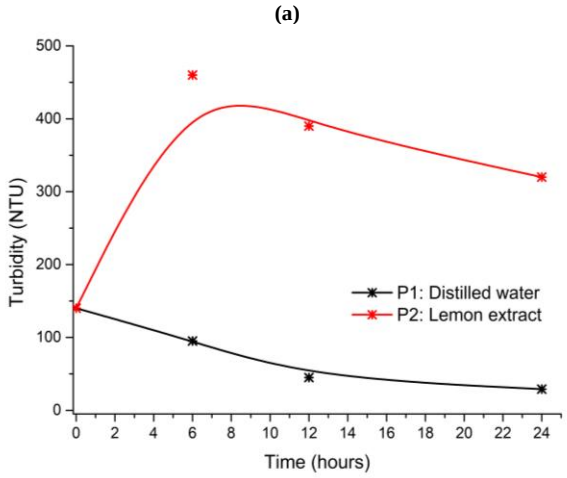
La Tabla I, presenta una hipótesis sobre una correlación sistemática entre los rangos de número de onda (cm^{-1}) obtenidos por espectroscopía FTIR y los posibles mecanismos de acción antimicrobiana asociados. Dentro de esta información, destaca la banda ancha O–H (3600–3200 cm^{-1}) asociadas a fenoles y alcoholes, cuya alta intensidad sugiere abundancia de compuestos polares, relacionados con mecanismos como la desnaturalización de proteínas y la generación de estrés oxidativo. Otras bandas clave, como las de estiramiento C=O (1750–1700 cm^{-1}) y C=C aromático (1680–1500 cm^{-1}), se vinculan a flavonoides y ésteres, con acciones que incluyen la inhibición enzimática y la alteración de la permeabilidad membranal [35,39]. En esta tabla, cada entrada vincula la presencia y la intensidad relativa de las bandas con efectos biológicos hipotéticos, como el daño de membrana, inhibición enzimática, liberación de agliconas y actividad anti-biofilm.

TABLA I
CORRELACIÓN ENTRE BANDAS FTIR Y MECANISMOS ANTIMICROBIANOS PROPUESTOS PARA EL EXTRACTO DE *C. LIMON*

Rango (cm^{-1})	**Asignación vibracional**	**Grupo funcional posible**	**Interpretación cualitativa / cuantitativa**	**Mecanismo antimicrobiano propuesto**
3600–3200	Estiramiento O–H; bandas anchas por H-enlace	O–H (fenoles, alcoholes)	Presencia de compuestos polares; banda más ancha = mayor H-enlace; intensidad correlaciona con abundancia relativa	Desnaturalización de proteínas; interacción con membrana; generación de estrés oxidativo [45,46].
3000–2850	Estiramientos C–H sp^3	C–H alifático (terpenos, cadenas alifáticas)	Señal de hidrocarburos y terpenos; mayor intensidad sugiere mayor contenido lipofílico	Disrupción de bicapa lipídica; inhibición de bombas de eflujo [47,48] .
3100–3000	Estiramiento C–H sp^2	C–H aromático / =C–H (aromáticos, flavonoides)	Indica presencia de anillos aromáticos; picos adicionales en 1600–1500 confirman aromáticos	No Aplica
1750–1700	Estiramiento C=O	C=O (ésteres, cetonas, ácidos carboxílicos)	Pico fuerte y nítido sugiere ésteres o cetonas; desplazamientos indican conjugación o H-enlace	Interferencia en rutas metabólicas; alteración de membrana; modulación de permeabilidad [48,50].
1680–1500	Estiramientos C=C aromáticos; amida I/II	C=C aromático (flavonoides, fenoles); amida (si hay N)	Señal típica de fenoles y flavonoides; patrón multipico indica sustituciones	Inhibición de enzimas, unión a proteínas, bloqueo de síntesis de pared; anti-biofilm [51,52].

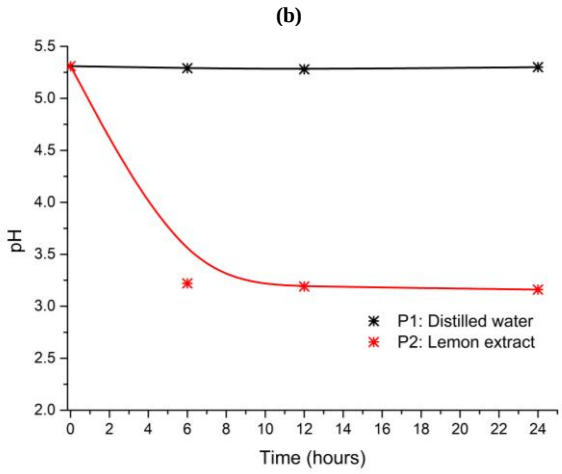
La caracterización FTIR del extracto de *C. limon* reveló grupos funcionales clave que pueden relacionarse hipotéticamente con la actividad antimicrobiana (Tabla I). La

presencia de grupos funcionales clave, como los estiramientos O-H (3600-3200 cm^{-1}), C=O (1750-1700 cm^{-1}) y C=C aromático (1680-1500 cm^{-1}) son indicativos directos de ácidos fenólicos (ácido cafeico, ácido clorogénico) y flavonoides (hesperidina, naringenina, rutina), los cuales constituyen la firma química característica de los cítricos [37,53,54]. El estiramiento O–H (3600-3200 cm^{-1}) agrupa a fenoles, alcoholes los cuales pueden actuar desnaturalizando proteínas [45,46]. Mientras que el estiramiento C=O (1750-1700 cm^{-1}) agrupa a ésteres, cetonas, ácidos carboxílicos que actúan sobre la iinterferencia en rutas metabólicas bacterianas, en la alteración de membrana y la modulación de permeabilidad



[48,50]. Finalmente el estiramiento C=C aromáticos agrupa a flavonoides y fenoles, los cuales actúan a nivel enzimático, en el bloqueo de síntesis de pared y en la formación de biofilm (anti-biofilm) [51,52].

Las correlaciones entre los grupos funcionales y los mecanismos antimicrobianos propuestos constituyen hipótesis de trabajo basadas en la literatura y en las asociaciones espectroscópicas observadas mediante FTIR y UV-Vis. Estas técnicas permiten identificar únicamente grupos funcionales vinculados a familias de compuestos como fenoles, flavonoides y polisacáridos, pero no posibilitan la identificación ni la cuantificación inequívoca de metabolitos individuales. Por ello, los mecanismos sugeridos anteriormente deben considerarse aproximaciones hipotéticas que requieren validación experimental. Entre las limitaciones del presente estudio se reconoce la ausencia de ensayos mecanísticos específicos y de fraccionamiento guiado por actividad, procedimientos indispensables para confirmar la participación de compuestos concretos en la actividad antimicrobiana. Futuros trabajos deberán abordar estas limitaciones mediante estudios complementarios que permitan establecer con mayor certeza la relación entre los perfiles espectroscópicos y la bioactividad observada~~Las correlaciones entre los grupos funcionales y los mecanismos propuestos en la Tabla I, constituyen hipótesis de trabajo basadas en la literatura, que deberían validarse experimentalmente en~~



~~estudios futuros mediante ensayos mecanísticos y fraccionamiento guiado biológicamente. Es importante reconocer las limitaciones de este estudio, que deberían abordarse en futuras investigaciones~~.

Los resultados presentados en la Fig. 2, muestran que el extracto de *C. limon* ejerce efectos diferenciados sobre la Turbidez y el pH del agua contaminada. En cuanto a la turbidez, el extracto no mostró capacidad clarificante, mientras que respecto al pH, el extracto disminuyo el pH en agua posiblemente debido a la presencia de materia orgánica disuelta.

Fig. 2 Efecto del extracto de *C. limon* en la turbidez y pH del agua contaminada durante la experimentación. (a) Turbidez y (b) pH.

Respecto a la evaluación de los parámetros fisicoquímicos, algunos estudios han documentado que los extractos vegetales pueden reducir la turbidez y los sólidos mediante procesos de coagulación-floculación [55,56]; sin embargo observamos que el aumento en la turbidez, es contrario al efecto clarificante propio de los coagulantes naturales como *Moringa oleifera* y cuya eficacia se basa en proteínas catiónicas que neutralizan y agregan partículas coloidales [57]. Otras investigaciones describen un aumento transitorio de la turbidez inmediatamente después de la adición del extracto, atribuible a la liberación de compuestos solubles que posteriormente se incorporan a flóculos y sedimentan [58-60]. Estos comportamientos contrastantes indican que la eficacia depende de la formulación del extracto, la dosis aplicada y el tipo de solvente empleado (etanol o agua), ya que estas variables condicionan la solubilidad de los bioactivos y su interacción con partículas en suspensión [61]. Este fenómeno observado subraya que no todos los extractos vegetales con actividad biológica funcionan como coagulantes primarios, y su efecto neto sobre la claridad del agua depende de las características físico químicas de la fuente de agua.

Por otro lado, la acidificación consistente del pH constituye un efecto directo y predecible, atribuible al alto contenido de ácidos orgánicos de bajo peso molecular en el limón, principalmente ácido cítrico (47.9-52.6 g/kg) y ascórbico presente en las cáscaras de *C. limon* [62,63]. La disociación de estos ácidos en el medio acuoso libera protones (H^+), reduciendo el valor de pH [64]. Este descenso es un factor coadyuvante de la actividad antimicrobiana global debido a que un pH ácido puede alterar la homeostasis iónica

intracelular bacteriana, afectar la actividad enzimática y potenciar la acción de otros metabolitos antimicrobianos presentes en el extracto, creando un ambiente hostil para las bacterias patógenas presentes [65,66].

Los resultados presentados en la Fig. 3, presenta dos representaciones complementarias que muestran el efecto del extracto de *C. limon* sobre la carga bacteriana en aguas contaminadas: un gráfico de evolución temporal (a) con la carga expresada en Log_{10} (CFU/mL) y un diagrama de barras (b) con los porcentajes de remoción a 0, 6, 12 y 24 horas. En la Fig. 3 (a) se aprecia una disminución sostenida de la carga total y de los grupos bacterianos analizados, con una caída particularmente rápida y pronunciada en *Staphylococcus* spp., que alcanza valores cercanos a la detección mínima alrededor de las 12 horas; *E. coli* muestra una reducción más gradual, mientras que la curva de bacterias totales refleja la suma de estas tendencias y confirma una reducción ~~significativa~~ notable a lo largo del tiempo. En la Fig. 3 (b) se muestra la cuantificación de estos cambios a través del tiempo, esto expresado en porcentajes de remoción, los cuales aumentan progresivamente hasta superar el 90 % a las 24 horas, para las tres series, lo cual hace notar una eficacia notable del extracto en condiciones experimentales.

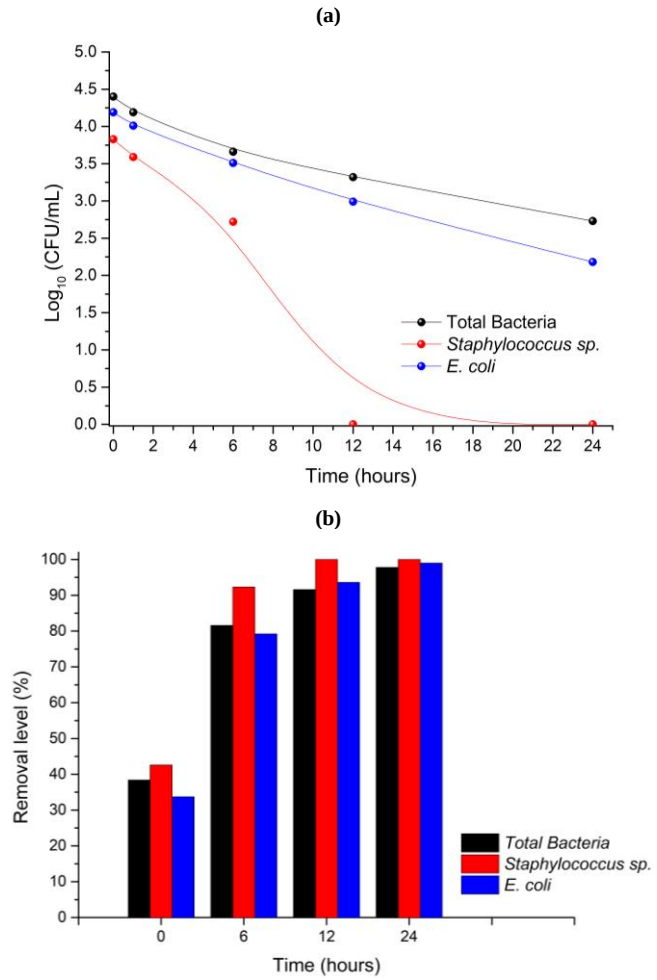


Fig. 3 Efecto del extracto de *C. limon* sobre la carga bacteriana presente en aguas contaminadas. (a) Reducción de la carga bacteriana expresada en unidades logarítmicas y (b) Porcentajes de remoción de la carga bacteriana.

En la Fig. 3 se muestra una disminución progresiva y dependiente del tiempo de la carga bacteriana tras la aplicación del extracto de *C. limon*. En la Fig. 3(a) las bacterias totales descienden desde aproximadamente 4.0 Log UFC/mL en el tiempo inicial hasta cerca de 2.7 Log UFC/mL a las 24 horas, lo que equivale a una reducción de 1.6 unidades logarítmicas. Para *E. coli* se observa una caída desde 4.2 Log UFC/mL hasta cerca del 2.2 Log UFC/mL a las 24 horas, es decir, una reducción de 2.0 unidades logarítmicas, mientras que *Staphylococcus* sp. disminuye desde 3.8 Log UFC/mL hasta valores de 0.0 Log UFC/mL (reducción de 3.8 unidades logarítmicas). En la Fig. 3(b) estos cambios se reflejan en los porcentajes de remoción: a las 24 horas se alcanzan valores superiores al 97 %, obtenido una remoción de 97.8 para bacterias totales, 99.0 % para *E. coli* y 100.0 % para *Staphylococcus* sp. En conjunto, los datos indican que el extracto ejerce un efecto antimicrobiano notable~~significativo~~ sobre la carga bacteriana en aguas contaminadas, con una mayor eficacia cuantitativa frente a la bacteria Gram positiva como *Staphylococcus sp.* que frente Gram negativas como *E. coli*. La evaluación de una sola concentración impide establecer una relación dosis-respuesta y determinar la concentración mínima inhibitoria. Futuros estudios deberán evaluar al menos tres concentraciones para caracterizar la eficacia del extracto.

Existe poca bibliografía que cuantifique la reducción bacteriana en medios líquidos en términos de unidades logarítmicas o porcentajes de remoción empleando extractos de *Citrus* spp. Sin embargo, se han localizado estudios que evalúan la eficacia antimicrobiana de formulaciones cítricas destinadas a la desinfección de superficies frente a patógenos concretos, lo que permite comparar sus niveles de reducción con los obtenidos en el presente estudio. El desinfectante Biosecur®, de base cítrica, mostró disminuciones de *Vibrio vulnificus* entre 3 y 6 órdenes logarítmicos al aplicarse en concentraciones del 0.5 % al 2.0 % [67].; asimismo, el extracto Citrox© en alimentos frescos provocó reducciones de 2.8 a 4.8 log UFC/g para *E. coli* O157:H7 [68]. En contraste, nuestros resultados experimentales muestran reducciones de entre 1.6 a 3.8 unidades logarítmicas, concretas en condiciones acuosas. L**as** bacterias totales descendieron 1.6 log UFC/mL, *E. coli* disminuyó 2.0 log UFC/mL y *Staphylococcus* sp. se redujo en 3.8 log UFC/mL, esto en condiciones acuosas dentro de las 24 horas del tratamiento

En lo que respecta a los porcentajes de remoción de la carga bacteriana, la evidencia disponible señala que el empleo de coagulantes de origen natural, como la levadura de pan, permite remover entre el 95 % y el 99 % de los coliformes presentes en muestras acuosas con turbidez de hasta 500 NTU [69]. Asimismo, un estudio que utilizó extracto de semillas de *Plantago ovata* consiguió una eliminación casi completa de coliformes totales y estreptococos en aguas fluviales con baja

contaminación inicial (600 UFC/100 ml) [70]. Estos valores son considerablemente inferiores a los observados en nuestra investigación donde la muestra a tratar presentaba una turbidez de 140 NTU y una carga bacteriana total de 2.5 x 10^4 UFC/mL (equivalente 2 500 000 UFC/100mL) donde se lograron remociones de 97.8 % para bacterias totales, 99.0 % para *E. coli* y 100.0 % para *Staphylococcus* sp. Estos resultados respaldan el potencial del extracto de *C. limon* como alternativa de bajo costo para el tratamiento de aguas contaminadas y subrayan la necesidad de estudios adicionales sobre dosis, mecanismos de acción y eficacia en matrices con distinta carga microbiana.

Se puede inferir que la diferencia en la susceptibilidad entre Gram positiva (*Staphylococcus* sp.) y Gram negativa *(E. coli*), se alinea a lo reportado en la literatura científica sobre la acción de fitocompuestos. Esta disparidad se fundamenta en las diferencias estructurales críticas de la envoltura celular bacteriana [65,71]. Las bacterias Gram negativas, como *E. coli*, poseen una membrana externa adicional compuesta por una bicapa asimétrica, donde la membrana externa está constituida predominantemente por lipopolisacáridos (LPS), moléculas anfipáticas que confieren una notable estabilidad y actúan como una barrera de permeabilidad altamente selectiva que restringe drásticamente la difusión pasiva de moléculas hidrofóbicas y de gran tamaño, requiriendo el paso a través de proteínas canal específicas llamadas porinas [22,72]. Muchos de los metabolitos secundarios presentes en el extracto de limón, como los flavonoides polares y los ácidos fenólicos, encuentran en la membrana bacteriana una barrera formidable que retrasa o reduce su llegada al sitio de acción intracelular, Por el contrario, la pared celular de las bacteria Gram positivas como *Staphylococcus* sp., carecen de esta membrana externa y su gruesa capa de peptidoglicano siendo una estructura más porosa que permite una penetración directa de los agentes antimicrobianos hacia la membrana citoplasmática [22].

Es importante reconocer las limitaciones de este estudio, que deberían abordarse en futuras investigaciones. La principal limitación radica en la ausencia de técnicas cromatográficas (HPLC-MS) que permitan la identificación y cuantificación específica de los compuestos responsables de la actividad observada, facilitando así correlaciones más precisas entre la composición química y la potencia antimicrobiana. Por tanto, las correlaciones establecidas entre los grupos funcionales detectados por FTIR y UV-Vis y los mecanismos de acción propuestos deben interpretarse como hipótesis de trabajo más que como conclusiones definitivas.

Reconocemos que las aguas superficiales albergan comunidades microbianas diversas más allá de los tres grupos de macroorganismos evaluados (Bacterias tales, *Staphylococcus* sp. y *E. coli*). Sin embargo, estos organismos fueron seleccionados debido a que: (i) *E. coli* es el principal indicador de contaminación fecal y se utiliza ampliamente en la evaluación de la calidad del agua en todo el mundo; y (ii) *S. aureus* sirve como indicador de estafilococos patógenos, incluyendo cepas resistentes a los antibióticos que representan una importante preocupación para la salud pública.

A pesar de la actividad antimicrobiana observada, la implementación práctica del extracto enfrenta diversos desafíos. El incremento de la turbidez (de 140 a 460 NTU) evidencia la presencia de materia orgánica soluble y partículas no sedimentables, lo que podría requerir etapas adicionales de filtración o coagulación. Asimismo, la acidificación del medio (pH 3.2) constituye un factor relevante, ya que puede comprometer la calidad del agua tratada. Otro aspecto crítico es la posible toxicidad del DMSO residual, que debe evaluarse mediante ensayos de citotoxicidad, junto con estudios de estabilidad frente a luz, temperatura y pH para determinar la vida útil del extracto. La escalabilidad del proceso depende de la disponibilidad de residuos de limón, del costo energético asociado a la sonicación y de la optimización de las condiciones de extracción.

Además, cualquier aplicación en agua destinada al consumo humano o al riego debe cumplir con normativas sanitarias, lo que exige análisis adicionales de subproductos y toxicidad. Este estudio se basó en un único lote de extracción, sin evaluar la reproducibilidad entre lotes, lo cual representa una limitación dada la variabilidad química inherente a los extractos vegetales. Por ello, futuras investigaciones deberán abordar aspectos como la reproducibilidad del rendimiento, el perfil químico y la actividad antimicrobiana en múltiples lotes, así como estudios de toxicología, estabilidad y efectos organolépticos, con el fin de garantizar la consistencia y robustez del producto antes de considerar aplicaciones industriales o prácticas.~~Aunque el extracto muestra potencial para el tratamiento del agua contaminada, se requiere investigación adicional en escalado, estabilidad, toxicología e impacto organoléptico antes de su implementación. Este estudio se basó en un único lote de extracción, sin evaluar la reproducibilidad entre lotes, lo cual es una limitación dada la posible variabilidad química de extractos vegetales. Por ello, futuros estudios deben evaluar la reproducibilidad del rendimiento, perfil químico y actividad antimicrobiana en múltiples lotes para garantizar la consistencia y robustez del producto antes de posibles aplicaciones industriales o prácticas~~.

IV. Conclusiones

Este estudio demostró que el extracto etanólico obtenido de los residuos de *C. limon* constituye una alternativa natural y prometedora, aunque su producción requiere insumos y equipos que pueden limitar su implementación directa en comunidades con recursos limitados. Aun así el extracto resulto ser eficaz para la reducción bacteriana en aguas superficiales contaminadas y su aplicación del extracto en una matriz acuosa real validó su potencial en condiciones casi reales, logrando porcentajes de remoción bacteriana superior al 97%.

La novedad de este trabajo radica en la validación específica del extracto para la reducción bacteriana en aguas superficiales en matrices reales, una aplicación que no se había explorado previamente para los extractos de *Citrus* spp.

A diferencia de otros estudios que exploran el efecto antimicrobiano de los extractos de las plantas, nuestro enfoque aborda desafíos prácticos en el tratamiento de agua en entornos con recursos limitados.

El extracto no actuó como un coagulante clarificante convencional, sino que indujo un aumento de la turbidez, probablemente debido a su carga de compuestos orgánicos solubles. No obstante, produjo una acidificación pronunciada~~significativa~~ del medio, atribuible a su contenido de ácidos orgánicos.

La caracterización espectrofotométrica mediante FTIR y UV-Vis sugirieron la presencia de grupos funcionales (O–H, C=O, C=C aromático) asociados a metabolitos capaces de interactuar con membranas celulares y rutas enzimáticas, lo que se atribuyó de manera hipotética en la actividad antimicrobiana. Sin embargo, en ausencia de análisis cromatográfico (HPLC-MS) y la cuantificación de los compuestos específicos responsables del efecto hacen que los mecanismos de acción se infieran de manera hipotética.

Los hallazgos de este estudio contribuyen a sentar las bases para el desarrollo de formulaciones desinfectantes naturales, accesibles y sostenibles que puedan apoyar eficazmente el logro del ODS 6: garantizar la disponibilidad y la gestión sostenible del agua y el saneamiento para todos, en particular en comunidades con recursos limitados y acceso restringido a tecnologías convencionales de tratamiento de agua.

Desde una perspectiva aplicada y de sostenibilidad, esta investigación es particularmente relevante, ya que demuestra la viabilidad de valorizar un residuo agroindustrial transformándolo en un insumo con potencial para abordar un problema crítico de salud pública. Los resultados se alinean con los principios de la economía circular y la química verde, proponiendo una alternativa natural que podría reducir la dependencia de desinfectantes convencionales como el cloro, cuyo uso genera subproductos tóxicos y se ha asociado con la resistencia microbiana.

Este estudio presenta varias limitaciones que deben ser consideradas. En primer lugar, no se realizó un análisis estadístico inferencial (ANOVA, pruebas post-hoc) para comparar los tratamientos, por lo que los resultados se presentan únicamente como estadística descriptiva (media ± desviación estándar). En segundo lugar, no se incluyó un control con DMSO a la misma concentración utilizada para disolver el extracto, lo que impide descartar completamente un posible efecto del solvente. En tercer lugar, solo se evaluó una concentración del extracto (0.5 mg/mL final), por lo que no fue posible establecer una relación dosis-respuesta. Estas limitaciones deben abordarse en futuras investigaciones mediante un diseño experimental más robusto que incluya: (i) control con solvente, (ii) al menos tres concentraciones del extracto, (iii) análisis estadístico inferencial con réplicas independientes, y (iv) ensayos de toxicidad, estabilidad y escalabilidad.

AGRADECIMIENTO/RECONOCIMIENTO

Los autores agradecen a los Centros e Institutos de Investigación de la Universidad César Vallejo por proporcionar las instalaciones y el apoyo institucional para este estudio.

REFERENCES

[1] United Nations, "Goal 6: Water and Sanitation," *Sustainable Development Goals*, 2025. [Online]. Available: un.org. [Accedido: 20-Mar-2026].

[2] UNESCO, World Water Assessment Programme (WWAP), R. Connor, S. Uhlenbrook, E. Koncagül, and A. R. Cordeiro Ortigara, "Informe Mundial sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos de las Naciones Unidas 2017: Aguas residuales, el recurso desaprovechado (Resumen Ejecutivo)," UNESCO, Paris, France, Rep. SC-2017/WS/1, 2017. [Online]. Available: https://sswm.info/sites/default/files/reference_attachments/UNESCO%202017.%20Informe%20Mundial%20sobre%20el%20Desarrollo.PDF. [Accedido: 20-Mar-2026].

[3] World Health Organization (WHO), "Drinking-water," *World Health Organization*, Sep. 13, 2023. [Online]. Available: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water. [Accedido: 20-Mar-2026].

[4] United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), *The United Nations World Water Development Report 2019: Leaving No One Behind*, Paris, France: UNESCO, 2019. ISBN: 9789231003097.

[5] F. G. Paucar Aedo and G. Real Ferrer, "Reutilización de aguas en España y el Perú: avances y desafíos," *South Sustainability*, vol. 3, no. 1, e047, 2022. [Online]. Available: https://sostenibilidad.revistes.ua.es/article/view/2022-n4-reutilizacion-de-aguas-en-espana-y-el-peru-avances-y-des. [Accedido: 20-Mar-2026].

[6] S. L. García Ccahuana, "Economía circular aplicada al agua: Perspectivas para el reciclaje y reutilización," *Sciencevolution*, vol. 1, no. 13, pp. 29–38, Jan. 2025. doi: 10.61325/ser.v1i13.160.

[7] L. Wang *et al.*, "Health Risk Assessment via Ingestion of Disinfection By-Products in Drinking Water," *Sci. Rep.*, vol. 15, no. 1, Art. no. 1793, Jan. 2025. doi: 10.1038/s41598-024-84094-9.

[8] B. N. Anderson, G. P. Black, and T. M. Young, "Disinfection Byproducts in Drinking Water from the Tap: Variability in Household Calculated Additive Toxicity (CAT)," *ACS ES&T Water*, vol. 4, no. 8, pp. 3532–3539, Aug. 2024. doi: 10.1021/acsestwater.4c00392.

[9] S. K. Ali, M. M. Abdou, M. M. Emara, R. S. Farag, and M. F. Mubarak, "Eco-Friendly Solutions: A Comprehensive Review of Natural Coagulants for Sustainable Water Treatment," *Environ. Geochem. Health*, vol. 47, no. 1, Art. no. 535, Jan. 2025. doi: 10.1007/s10653-025-02803-3.

[10] J. Kumar, M. Choudhary, P. K. Dikshit, and S. Kumar, "Recent Advancements in Utilizing Plant-Based Approaches for Water and Wastewater Treatment Technologies," *Clean. Water*, vol. 2, Art. no. 100030, 2024. doi: 10.1016/j.clwat.2024.100030.

[11] .P. I. Namane, M. W. Letshwenyo, and A. Yahya, "Evaluation of Plant-Based Coagulants for Turbidity Removal and Coagulant Dosage Prediction Using Machine Learning," *Environ. Technol.*, vol. 46, no. 16, pp. 2570–2585, 2025. doi: 10.1080/09593330.2024.2439183.

[12] L. A. Tesfaye and M. Fougère, "Frugal innovation," in *Elgar Encyclopedia of Innovation Management*, Paris, France: Edward Elgar Publishing, 2025, pp. 219–221.

[13] G. G. Suarez-Velázquez, V. Lugo-Lugo, and P. C. Meléndez-González, "Carbon derived from citrus peel waste: advances in synthesis methods and emerging trends for potential applications—a review," *Biomass Conv. Bioref.*, vol. 15, pp. 30705–30731, 2025. doi: 10.1007/s13399-025-06889-8.

[14] A. J. Bacca Narvaez, A. Vásquez García, I. Rodríguez, y J. España Muñoz, "Potencial de los compuestos bioactivos de residuos de frutas y verduras en la industria alimentaria: Una revisión," *Rev. Cienc.*, vol. 27, p. 14046, 2025. doi: 10.25100/rc.v27i2.14046.

[15] E. P. Soto Toloza, L. A. Caballero Pérez, y J. L. Abril Florez, "Obtención de compuestos bioactivos a partir de residuos agroindustriales: Una

revisión," *Rev. Ambient. Agua, Aire y Suelo*, vol. 16, pp. 1–30, 2025. doi: 10.24054/raaas.v16i1.3666.

[16]M. Negrea, I. Cocan, C. Jianu, E. Alexa, A. Berbecea, M.-A. Poiana, y M. Silivasan, "Valorization of Citrus Peel Byproducts: A Sustainable Approach to Nutrient-Rich Jam Production," *Foods*, vol. 14, p. 1339, 2025. doi: 10.3390/foods14081339.

[17]P. Alonso-Vázquez, "Recuperación y concentración de compuestos bioactivos de elevado valor a partir de residuos generados en la industria de cítricos mediante tecnologías emergentes de membrana," Tesis de grado/máster (o tipo de documento), Universidad Politécnica de Valencia, 2026. [En línea]. Disponible en: https://riunet.upv.es/handle/10251/229296. [Accedido: 20-Mar-2026].

[18] A. Kapoor, S. Yadav, and R. K. Arya, "Punica granatum and Citrus limetta biowaste-derived sorbents for the removal of heavy metals and organic compounds: sustainability perspectives," *Biomass Conv. Bioref.*, vol. 15, pp. 28745–28765, 2025. doi: 10.1007/s13399-024-05726-8.

[19] W. El Bouaidi *et al.*, "Nature-Based Coagulants for Drinking Water Treatment: An Ecotoxicological Overview," *Water Environ. Res.*, vol. 94, p. e10782, 2022. doi: 10.1002/wer.10782.

[20] A. E. Sherif, Y. Amen, D. E. Rizk, y G. Abdelwahab, "Chemical Compositions and Antimicrobial Activities of Three Lemon Odor Essential Oils of Cupressus Macrocarpa, Cymbopogon Citratus. and Citrus Limon," *Egypt. J. Basic Appl. Sci.*, vol. 10, pp. 894–905, 2023. doi: 10.1080/2314808x.2023.2291245.

[21]C. A. Castañeda Olivera, Y. Rojas Cavero, y R. J. Cabello Torres, "Bibliometric analysis on the use of natural coagulants in the treatment of water for human use," en *Proc. 22nd LACCEI Int. Multi-Conf. Eng., Educ. Technol. (LACCEI 2024)*, 2024.

[22]G. M. Mahjaf, M. A. A. Mohammed, H. A. E. Ahmed, y L. M. A. Abdelgader, "In vitro assessment of antimicrobial activity of citrus lemon against selected clinical isolates from Shendi city, Sudan," *J. Bacteriol. Mycol. Open Access*, vol. 12, pp. 83–87, 2024. doi: 10.15406/jbmoa.2024.12.00378.

[23]S. S. Abu Amr, M. S. S. Abujazar, S. U. Karaağaç, R. Mahfud, M. Y. D. Alazaiza, y R. J. A. Hamad, "Application of Plant-Based Natural Coagulant for Sustainable Treatment of Steel and Iron Industrial Wastewater, Karabuk, Turkey," *Desalination Water Treat.*, vol. 287, pp. 39–45, 2023. doi: 10.5004/dwt.2023.29393.

[24]A. H. Atallah, S. R. Al-Saedi, y A. M. Khudaier, "Study the Effect of Healthy Biological Extracts Compared with Antibiotics on Some Bacteria Isolated from Infected Patients with Urinary Tract Infection," *Indian J. Public Health Res. Dev.*, vol. 10, p. 890, 2019. doi: 10.5958/0976-5506.2019.02006.0.

[25]M. E. Ahmed, "The study of Bacteriocin of Pseudomonas fluorescens and Citrus limon effects against Propionibacterium acnes and Staphylococcus epidermidis in acne patients," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1003, p. 012004, 2018. doi: 10.1088/1742-6596/1003/1/012004.

[26]H. Kodad *et al.*, "Antimicrobial potential of citrus limon peel essential oil from Morocco: A sustainable approach to citrus waste valorization," *Res. Ecol.*, vol. 7, no. 5, 2025. doi: 10.30564/re.v7i5.11689.

[27]W. Mkadem *et al.*, "Assessment of the Anti-Listeria Effect of Citrus Limon Peel Extract in Silico, in Vitro, and in Fermented Cow Milk during Cold Storage," *Foods*, vol. 14, p. 661, 2025. doi: 10.3390/foods14040661.

[28]N. Mahato *et al.*, "Citrus Waste Derived Nutra-/Pharmaceuticals for Health Benefits: Current Trends and Future Perspectives," *J. Funct. Foods*, vol. 40, pp. 307–316, 2018. doi: 10.1016/j.jff.2017.11.015.

[29]F. Chemat *et al.*, "Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A Review," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 34, pp. 540–560, 2017. doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.06.035.

[30]M. K. Khan *et al.*, "Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols (Flavanone Glycosides) from Orange (Citrus Sinensis L.) Peel," *Food Chem.*, vol. 119, pp. 851–858, 2010. doi: 10.1016/j.foodchem.2009.08.046.

[31]A. Altemimi *et al.*, "Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts," *Plants*, vol. 6, no. 4, p. 42, 2017. doi: 10.3390/plants6040042.

[32]S. Sangkham, "A Review on Detection of SARS-CoV-2 RNA in Wastewater in Light of the Current Knowledge of Treatment Process for Removal of Viral Fragments," *J. Environ. Manage.*, vol. 299, p. 113563, 2021. doi: 10.1016/j.jenvman.2021.113563.

[33]J. Coates, "Interpretation of infrared spectra, A practical approach," en *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, R.A. Meyers, Ed. Chichester: John Wiley & Sons, 2006.

[34]Z. Movasaghi, S. Rehman, y D. I. ur Rehman, "Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy of Biological Tissues," *Appl. Spectrosc. Rev.*, vol. 43, pp. 134–179, 2008. doi: 10.1080/05704920701829043.

[35]E. González-Molina *et al.*, "Natural Bioactive Compounds of Citrus Limon for Food and Health," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 51, pp. 327–345, 2010. doi: 10.1016/j.jpba.2009.07.027.

[36]R. Guimarães *et al.*, "Targeting Excessive Free Radicals with Peels and Juices of Citrus Fruits: Grapefruit, Lemon, Lime and Orange," *Food Chem. Toxicol.*, vol. 48, pp. 99–106, 2010. doi: 10.1016/j.fct.2009.09.022.

[37]A. Aouant *et al.*, "Implementation of Instrumental Analytical Methods, Image Analysis and Chemometrics for the Comparative Evaluation of Citrus Fruit Peels," *Foods*, vol. 14, p. 4115, 2025. doi: 10.3390/foods14234115.

[38]R. Mare *et al.*, "Assessment of Mediterranean Citrus Peel Flavonoids and Their Antioxidant Capacity Using an Innovative UV-Vis Spectrophotometric Approach," *Plants*, vol. 12, p. 4046, 2023. doi: 10.3390/plants12234046.

[39]V. L. Sanches *et al.*, "Comprehensive Analysis of Phenolics Compounds in Citrus Fruits Peels by UPLC-PDA and UPLC-Q/TOF MS Using a Fused-Core Column," *Food Chem. X*, vol. 14, p. 100262, 2022. doi: 10.1016/j.fochx.2022.100262.

[40]S. Skoko, M. Ambrosetti, T. Giovannini, y C. Cappelli, "Simulating Absorption Spectra of Flavonoids in Aqueous Solution: A Polarizable QM/MM Study," *Molecules*, vol. 25, p. 5853, 2020. doi: 10.3390/molecules25245853.

[41]A. Sykuła *et al.*, "Spectroscopic Characterization and Biological Activity of Hesperetin Schiff Bases and Their Cu(II) Complexes," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 24, p. 761, 2023. doi: 10.3390/ijms24010761.

[42]X. N. Mustafayeva, "Sitrus Qabiqlarinda Flavonoidlərin Ub-Spektrofotometriya Üsulu İlə Müqayisəli Miqdar Təyini," *ATU jurnalı*, vol. 5, pp. 1–3, 2025. doi: 10.28942/atuj.v5i2y2025.122.

[43]D. Thenarasan *et al.*, "Quantitative analysis of phenolic compounds in citrus peels using UV-visible spectrophotometry," Zenodo, 2025. doi: 10.5281/ZENODO.15735252.

[44]C. Ionescu, A. Samide, y C. Tigae, "Trend in Detection of Anthocyanins from Fresh Fruits and the Influence of Some Factors on Their Stability Impacting Human Health: Kinetic Study Assisted by UV-Vis Spectrophotometry," *Antioxidants*, vol. 14, p. 227, 2025. doi: 10.3390/antiox14020227.

[45]P. Wongsa, P. Phatikulrungsun, y S. Prathumthong, "FT-IR Characteristics, Phenolic Profiles and Inhibitory Potential against Digestive Enzymes of 25 Herbal Infusions," *Sci. Rep.*, vol. 12, p. 6631, 2022. doi: 10.1038/s41598-022-10669-z.

[46]H. Yilmaz, B. Gultekin Subasi, H. U. Celebioglu, T. Ozdal, y E. Capanoglu, "Chemistry of Protein-Phenolic Interactions toward the Microbiota and Microbial Infections," *Front. Nutr.*, vol. 9, p. 914118, 2022. doi: 10.3389/fnut.2022.914118.

[47]M. Stasiuk y A. Kozubek, "Biological Activity of Phenolic Lipids," Cell. Mol. Life Sci., vol. 67, pp. 841–860, 2010. doi: 10.1007/s00018-009-0193-1.

[48]D. Trombetta *et al.*, "Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes," *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, pp. 2474–2478, 2005. doi: 10.1128/AAC.49.6.2474-2478.2005.

[49]O. O. Shonekan, A. C. Otuka, D. K. Adeyemi, y O. T. Fatunsin, "A comparison of antioxidant and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) analysis on extracts of Syzygium guineenses (Myrtaceae)," *J. Biomed. Sci. Pharm. Res.*, vol. 1, no. 2, 2020. [En línea]. Disponible en: https://www.jbspr.com/wp-content/uploads/2020/01/1-7-Shonekan-et-al.-Antioxidant-and-FTIR-analysis-of-S.-guineenses-Final-Vol.1Issue2ad.pdf. [Accedido: 20-Mar-2026].

[50]I. A. A.-H. Hamdan y J. H. Tomma, "Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation for new esters derivatives containing two 1, 3, 4-oxadiazole units," *Iraqi J. Sci.*, vol. 65, no. 4, pp. 1800–1812, 2024. doi: 10.24996/ijs.2024.65.4.2.

[51]B. Almutairy, "Flavonoid-Mediated Biofilm Inhibition and Toxicological Evaluation of Atriplex Laciniata against Multi-drug-Resistant MRSA," *Front. Pharmacol.*, vol. 16, p. 1577052, 2025. doi: 10.3389/fphar.2025.1577052.
[52]A. Trendafilova *et al.*, "Phytochemical Characterization and Anti-Biofilm Activity of Primula Veris L. Roots," *Molecules*, vol. 30, p. 1702, 2025. doi: 10.3390/molecules30081702.
[53]R. Zapata, L. Martínez-Zamora, y F. Artés-Hernández, "Diversity of color, infrared spectra, and phenolic profile correlation in citrus fruit peels," en *Proc. 5th Int. Electron. Conf. Foods*, Basel, Suiza: MDPI, 2025, p. 26.
[54]R. Ciriminna *et al.*, "Citrus Flavonoids as Antimicrobials," *Chem. Biodivers.*, vol. 22, p. e202403210, 2025. doi: 10.1002/cbdv.202403210.
[55]Z. Dollah *et al.*, "Citrus fruit peel waste as a source of natural coagulant for water turbidity removal," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 1349, p. 012011, 2019. doi: 10.1088/1742-6596/1349/1/012011.
[56]D. R. Rawat, K. M. Parmar, y S. S. Thorat, "Comparative Analysis of Plant-Based Natural Coagulants for Wastewater Treatment," *Curr. World Environ.*, vol. 20, pp. 395–409, 2025. doi: 10.12944/cwe.20.1.30.
[57]K. A. Ghebremichael, *Moringa Seed and Pumice as Alternative Natural Materials for Drinking Water Treatment*, Estocolmo, Suecia: Royal Institute of Technology (KTH), 2004. ISBN: 9789172839069.
[58]C. A. Benjumea-Hoyos, M. Toro Martínez, y V. Luna Marin, "Evaluación de la eficiencia de extractos naturales en el proceso de coagulación floculación de aguas crudas, con fines de potabilización," *Bionatura*, vol. 6, pp. 1770–1777, 2021. doi: 10.21931/rb/2021.06.02.17.
[59]Paul *et al.*, "Evaluating Citrus Limon and Carica papaya seed extracts in coagulation-flocculation for improved water quality: Implications for treatment plants," *Glob. J. Pure Appl. Sci.*, vol. 30, pp. 421–429, 2024. doi: 10.4314/gjpas.v30i4.2.
[60]S. A. Kate, S. G. N., y B. Suresh, "The used of citrus species fruit peel powder as Eco-friendly wastewater coagulants," *Int. J. Appl. Eng. Technol.*, vol. 12, pp. 1–7, 2022. [En línea]. Disponible en: https://www.cibtech.org/J-ENGINEERING-TECHNOLOGY/PUBLICATIONS/2023/JET-001-CITRUS-PEEL.pdf. [Accedido: 20-Mar-2026].
[61]H. L. M. Zambrano *et al.*, "Propiedades coagulantes de extractos naturales secos de semillas de M. Oleífera y hojas C. Spinosa en jugo de naranja," *Polo del Conocimiento*, vol. 6, pp. 527–539, 2021.
[62]S. Suri, A. Singh, y P. K. Nema, "Recent Advances in Valorization of Citrus Fruits Processing Waste: A Way Forward towards Environmental Sustainability," *Food Sci. Biotechnol.*, vol. 30, pp. 1601–1626, 2021. doi: 10.1007/s10068-021-00984-y.
[63]A. Riaz *et al.*, "Citrus Limon Peroxidase-Assisted Biocatalytic Approach for Biodegradation of Reactive 1847 Colfax Blue P3R and 621 Colfax Blue R Dyes," *Bioprocess Biosyst. Eng.*, vol. 46, pp. 443–452, 2023. doi: 10.1007/s00449-022-02802-z.
[64]D. Guaya *et al.*, "Wastewater Treatment Focused on the Reuse and Provision of Agricultural Supplies: Combination of Phosphate Adsorption and Microbial Reduction," *Ind. Crops Prod.*, vol. 197, p. 116600, 2023. doi: 10.1016/j.indcrop.2023.116600.
[65]A. Ioppolo *et al.*, "Wastewaters from Citrus Processing Industry as Natural Biostimulants for Soil Microbial Community," *J. Environ. Manage.*, vol. 273, p. 111137, 2020. doi: 10.1016/j.jenvman.2020.111137.
[66]L. H. Gurusiddappa *et al.*, "Antimicrobial activity and phytochemical analysis of solvent extraction of citrus Limon peels," *World J. Environ. Biosci.*, vol. 12, pp. 1–6, 2023. doi: 10.51847/ey4o2bfksc.
[67]J. Cormier, R. Scott, y M. Janes, "Antibacterial Activity of Biosecur(®) Citrus Extract Surface Cleaner against Vibrio Vulnificus," *Open Microbiol. J.*, vol. 7, pp. 130–134, 2013. doi: 10.2174/1874285801307010130.
[68]M. I. Tsiraki *et al.*, "Viability of and Escherichia Coli O157:H7 and Listeria Monocytogenes in a Delicatessen Appetizer (Yogurt-Based) Salad as Affected by Citrus Extract (Citrox©) and Storage Temperature," *Food Microbiol.*, vol. 69, pp. 11–17, 2018. doi: 10.1016/j.fm.2017.07.014.
[69]"Removal of turbidity and coliform bacteria from karoon river water by natural coagulants aid (bread yeast) with PAC," en *Proc. Int. Conf. Chem., Environ. Biol. Sci. (CEBS-2015)*, Dubái, Emiratos Árabes Unidos, 2015.
[70]B. Ramavandi, "Treatment of Water Turbidity and Bacteria by Using a Coagulant Extracted from Plantago Ovata," *Water Resour. Ind.*, vol. 6, pp. 36–50, 2014. doi: 10.1016/j.wri.2014.07.001.
[71]S. Saeb, M. Amin, y R. Seyfi Gooybari, "Evaluation of Antibacterial Activities of Citrus Limon, Citrus Reticulata, and Citrus Grandis Against Pathogenic Bacteria," *Int. J. Enteric Pathog.*, vol. 4, pp. 11–15, 2016. doi: 10.15171/ijep.2016.13.
[72]F. Uwumuremyi *et al.*, "Antimicrobial activities of Citrus seed and leaf extracts against selected bacterial and fungal pathogens linked to human diseases: In vitro experimental study in musanze, Rwanda," *J. Drug Deliv. Ther.*, vol. 15, pp. 28–33, 2025. doi: 10.22270/jddt.v15i1.6933.