



**REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA ACTUALIZADA
DE LOS POSIBLES EFECTOS
FUNCIONALES DE DIFERENTES
NUTRIENTES DEL LIMÓN (*C. limon*)**





INFORME FINAL

INF.960

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA ACTUALIZADA DE LOS POSIBLES EFECTOS FUNCIONALES DE DIFERENTES NUTRIENTES DEL LIMÓN (*C. limon*)

PRINCIPAL RESEARCHER

José Luis Mullor Sanjosé, PhD

DATE

21/06/2021



CLIENTE

AILIMPO S.A.

Villaleal, 3

30001 Murcia, MURCIA (España)

CIF: G73005027

DIRECTOR CIENTÍFICO

José Luis Mullor, PhD

jlmullor@bionos.es

EMPRESA

Bionos Biotech, S.L.

Biopolo La Fe, Av. Fernando Abril Martorell 106, Torre A, 1ª planta

46026 Valencia (Spain)

Phone: +96 124 32 19

INDEX

Resumen Ejecutivo	5
1 Título	7
2 Introducción	7
3 El género Citrus	9
3.1 Características botánicas y presencia de <i>C. limon</i>	11
4 Monografías de la farmacopea y su uso seguro.	13
5 Composición química de C. limon	14
6 Estudios del perfil metabólico.	20
7 Funcionalidad y efectividad biológica de C. Limon.	22
7.1 Actividad anticancerígena.	22
7.2 Actividad antioxidante.	22
7.3 Actividad antiinflamatoria.	22
7.4 Actividad anti-microbiana	23
7.4.1 Actividad antibacteriana	23
7.4.2 Actividad antifúngica	23
7.4.3 Actividad antiviral	25
7.5 Efecto anti-parásitos.	25
7.6 Efecto anti-alérgico	25
7.7 Efectos hepáticos	25
7.8 Efecto antidiabético	26
7.9 Aplicaciones dietéticas.	26
7.10 Efectos en el sistema digestivo	26

7.11 Efectos en el sistema cardiovascular	26
7.12 Actividad en el Sistema Nervioso.	27
7.13 Actividad en el Sistema óseo.	27
7.14 <i>C. limon</i> en farmacia.	29
8 C. limon en la industria alimentaria	29
9 Aplicaciones en la industria cosmética.	30
10 Estudios de Biotecnología vegetal en <i>C. limon</i>	34
11 Biodisponibilidad de los nutrientes de <i>C. limon</i>.	34
12 Conclusiones	36
13 Referencias y notas	38

Resumen Ejecutivo

A lo largo de la historia se ha considerado al limón como una fruta con gran cantidad de propiedades funcionales beneficiosas para el organismo por su rica composición química.

Sin embargo, muchos de estos efectos funcionales se han asumido como ciertos, más por la tradición que por los estudios específicos que se hayan realizado al respecto.

El objetivo del presente informe consiste en realizar una revisión bibliográfica de las evidencias científicas acerca de la funcionalidad y la efectividad biológica, tanto del limón como de su aceite esencial.

Los estudios farmacológicos más recientes muestran las actividades biológicas saludables de la fruta de *C. limon* así como su aplicación, cada vez mayor, en cosmetología y producción de alimentos.

Componente del <i>C. limon</i>	Actividad Biológica	Aplicaciones en Industria Alimentaria	Aplicaciones en Industria Cosmética
Extracto o jugo	Anticancerígena		
	Antioxidante	Gelificante	
	Antiinflamatoria	Espesante	
	Antibacteriana	Texturizador	
	Antifúngica	Emulsionante	Anti-acné
	Antiviral	Estabilizador en productos lácteos	Antioxidante
	Antialérgica		Aumenta la producción de colágeno
	Hepatorregenerativa	Aderezante	Antiarrugas
	Prevención de diabetes	Aromatizante	
	Actividad dietética	Conservante	
	Efectos en el sistema cardiovascular	Acidulante	
	Efectos en el sistema nervioso		
	Efectos en el sistema óseo		

Funcionalidad y efectividad biológica del extracto o el jugo del *C. limon*

Componente del <i>C.limon</i>	Actividad Biológica	Aplicaciones en Industria Alimentaria	Aplicaciones en Industria Cosmética
Aceite esencial	Anticancerígena		
	Antiinflamatoria		
	Antibacteriana		Efecto despigmentante
	Anticaries		Promotor de la penetración de
	Antifúngica		sustancias activas en
	Antiviral		la piel
	Antiparásita	Aromatizante	
	Hepatoprotectora y destoxificadora	Conservante	Conservante natural
	Prevención de diabetes		Actividad antibacteriana
	Antiobesidad		Efecto fungistático
	Efectos en el sistema digestivo		Regeneración de
	Reducción del colesterol		heridas diabéticas
Efectos en el sistema nervioso			

Funcionalidad y efectividad biológica del aceite esencial del *C. limon*

Además, a lo largo del documento se describen aspectos generales sobre sus características botánicas, composición química o perfil metabólico, incluso se citan aplicaciones tradicionales del limón documentadas en la literatura científica.

Sin embargo, a pesar de la amplia variedad de nutrientes presentes en el limón los estudios se han centrado en los más abundantes, como la Vitamina C o el D-limoneno, mientras que encontramos innumerables compuestos que son potenciales nutrientes que podrían demostrar funcionalidad y actividad biológica a unas concentraciones mayores a las que se encuentran en el jugo de un limón, tales como la hesperidina entre otros.

Por otro lado, muchos de los compuestos presentes en el jugo de limón podrían presentar dificultades para su absorción en el intestino y demostrar el efecto fisiológico esperado debido a la matriz y el entorno en el que se encuentran. En este sentido, futuros estudios deben centrar esfuerzos en la modificación de los sistemas de administración oral y realizar ensayos clínicos que demuestren la seguridad y la eficacia en grupos de individuos humanos, mejorando la carga útil de los nutrientes, su estabilidad *in vivo*, su biodistribución y la eficacia en la funcionalidad biológica.

1 Título

Revisión bibliográfica actualizada de los posibles efectos funcionales de diferentes nutrientes del limón (*C. limon*).

2 Introducción

Citrus limon (L.) Burm. f. es un árbol con hojas perennes y frutos comestibles amarillos de la familia Rutaceae.

La principal materia prima de *C. limon* es el fruto, particularmente el aceite esencial y el jugo obtenido de él. La fruta de *C. limon* destaca por tener propiedades nutricionales bien conocidas, pero vale la pena señalar que sus valiosas actividades biológicas están subestimadas en la fitoterapia y cosmetología modernas¹.

El jugo de la fruta de *C. limon* (jugo de limón) fue clásicamente utilizado como un remedio para el escorbuto antes del descubrimiento de la vitamina C². Este uso común de *C. limon*, conocido desde la antigüedad, ha sido apoyado hoy en día por numerosos estudios científicos. Otros usos tradicionales del jugo de limón incluyen el tratamiento de la presión arterial alta, el resfriado común y la menstruación irregular. Por otra parte, el aceite esencial de *C. limon* es un remedio popular para la tos³⁻⁵. Además de ser rico en vitamina C, que ayuda a evitar infecciones, el jugo se utiliza tradicionalmente para tratar el escorbuto, el dolor de garganta, las fiebres, el reumatismo, la presión arterial alta y el dolor en el pecho⁶.

En Trinidad, tradicionalmente se ha utilizado una mezcla de jugo de limón con alcohol o aceite de coco para tratar la fiebre, la tos en el resfriado común y la presión arterial alta. Además, el jugo o piel rallada, mezclado con melaza, se ha utilizado para eliminar el exceso de agua del cuerpo, y el jugo mezclado con aceite de oliva se ha administrado para la infección del útero y los cálculos renales⁴. Según la medicina tradicional india, el jugo de *C. limon* puede inducir la menstruación; la dosis tradicionalmente recomendada para esto es de dos cucharaditas consumidas dos veces al día⁵.

Actualmente, valiosas publicaciones científicas se centran en las acciones farmacológicas cada vez más ampliamente reconocidas del extracto, jugo y aceite esencial de la fruta de *C. limon*. Algunas de ellas demuestran actividades antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias, anticancerígenas, hepatoprotectoras y cardioprotectoras, por señalar algunos ejemplos⁷⁻¹¹.

El potencial farmacológico de *C. limon* está determinado por su rica composición química. El grupo más importante de metabolitos secundarios en la fruta incluye flavonoides y otros compuestos, como ácidos fenólicos, cumarinas, ácidos carboxílicos, aminoácidos y vitaminas. Los principales compuestos del aceite esencial son los monoterpenoides, especialmente el D-limoneno. Estos valiosos componentes químicos son la razón de la importante posición de *C. limon* en las industrias alimentaria y cosmética¹²⁻¹⁴.

Debemos destacar que los usos tradicionales de *C. limon* pueden estar arraigados a la cultura y costumbres de ciertas regiones o países, pero debe demostrarse su eficacia mediante evidencia científica.

El objetivo de esta revisión sistemática es ofrecer una visión general de los trabajos científicos y un análisis en profundidad de las últimas investigaciones relacionadas con *C. limon* como una especie vegetal valiosa e importante en farmacia, cosmetología y la industria alimentaria. Además, se presentan las investigaciones biotecnológicas más relevantes.

3 El género *Citrus*

El género *Citrus* es una de las subunidades taxonómicas más importantes de la familia *Rutaceae*. Los frutos producidos por las especies pertenecientes a este género se llaman 'cítricos' en lenguaje coloquial. Los cítricos son comúnmente conocidos por sus valiosas propiedades nutricionales, farmacéuticas y cosméticas. El género *Citrus* incluye plantas perennes, arbustos o árboles (de 3 a 15 m de altura). Sus hojas son coriáceas, de forma ovoide o elíptica. Algunos de ellos tienen picos. Las flores crecen individualmente en las axilas de las hojas. Cada flor tiene cinco pétalos, blancos o rojizos. El fruto es una baya de *hesperidium*. Las especies perteneciente al género *Citrus* se encuentra de forma natural en zonas con un clima cálido y templado, principalmente en la región mediterránea. Suelen ser sensibles a las heladas².

Una de las especies más conocidas y explotadas del género *Citrus* es el limón: *Citrus limon* (L.) Burm. f. (sinónimos latinos: *C. × limonia*, *C. limonum*). Otras especies importantes incluidas en esta unidad taxonómica son: *Citrus aurantium* ssp. *Aurantium* (naranjaamarga), *Citrus sinensis* (naranja china), *Citrus reticulata* (mandarina), *Citrus paradise* (pomelo), *Citrus bergamia* (bergamota naranja), *Citrus medica* (citron), entre otros. Un equipo de científicos de la Universidad de California (Oakland, California, EE.UU.) analizó el origen de varias especies del género *Citrus*, entre ellas *C. limon*. Encontraron que *C. limon* era una planta que se había formado como resultado de la combinación de dos especies: *C. aurantium* y *C. medica*¹⁵. En los estudios de científicos de la Southwest University of China (Chongqing, China), los perfiles de metabolitos de *C. limon*, *C. aurantium* y *C. medica* fueron evaluados¹⁶. Demostraron que *C. limon* presenta una distancia filogenética menor con *C. aurantium* y *C. medica* en comparación con otras especies de *Citrus*. Estos estudios demostraron que *C. limon* era probablemente un híbrido de *C. medica* y *C. aurantium*, como se sospechaba inicialmente¹⁶.

La clasificación botánica de las especies del género *Citrus* es muy compleja debido a la frecuente formación de híbridos y la introducción de numerosos cultivos a través de la polinización cruzada. Los híbridos se producen para obtener frutas con valiosas propiedades organolépticas e industriales, incluyendo fruta sin semillas, alta jugosidad y nuevos sabores. Para identificar variedades, híbridos y cultivos más antiguos, a menudo son necesarias técnicas moleculares avanzadas. *C. limon*, como muchas otras especies de cítricos prolíficos, da lugar a numerosas variedades, cultivos e híbridos, que se presentan en las Tablas 1 y 2¹⁷.

Nombre	Origen	Zona de Cultivo	Características
<i>C. limon</i> 'Primofiori' (<i>C. limon</i> 'Fino', <i>C. limon</i> 'Mesero', <i>C. limon</i> 'Blanco')	España	España	Variedad productiva con espinas. Las frutas tienen forma esférica u ovalada, con una pequeña verruga al final.
<i>C. limon</i> 'Berna'—(<i>C. limon</i> 'Verna', Verma lemon)	España	España	Los ejemplares son grandes, sin espinas. Florece dos o tres veces al año. Los frutos de cosechas individuales difieren en propiedades y se denominan "Cosecha" (colecciones principales), "Secundus" y "Rodrejos".
<i>C. limon</i> 'Bearss' (<i>C. limon</i> 'Sicilian', limón Bearss)	Florida	Florida, Brasil	Crece rápidamente y es muy productivo. Tiene flores aromáticas, fruta jugosa y una alta sensibilidad a las bajas temperaturas.
<i>C. limon</i> 'Bearss' (<i>C. limon</i> 'Sicilian', limón Bearss)	Florida	Florida, Brasil	Crece rápidamente y es muy productivo. Tiene flores aromáticas, fruta jugosa y una alta sensibilidad a las bajas temperaturas.
<i>C. limon</i> 'Femminello'	Italia	Italia	Variedad muy productiva. Florece y da frutos durante todo el año.
<i>C. limon</i> 'Genova' (<i>C. limon</i> 'Genoa')	Italia	California, Florida, Chile	Árboles sin pinchos, resistentes al frío con follaje denso. Los frutos amarillos con punta marcada tienen un pericarpio liso y delgado.
<i>C. limon</i> 'Interdonato'	Italia	Italia	Tiene frutos grandes, oblongos y cilíndricos puntiagudos. El pericarpio se adhiere fuertemente al fruto; es delgado, liso y amarillo. Con pocas semillas.
<i>C. limon</i> 'Lisboa'	Portugal	California, Arizona, Australia, Uruguay,	Tiene espinas largas, piel gruesa, flores rosadas y pulpa de color amarillo pálido.
<i>C. limon</i> 'Monachello'	Italia	Italia	La principal ventaja de esta variedad es la alta resistencia a la enfermedad causada por <i>Phoma tracheiphila</i> .
<i>C. limon</i> 'Santa Teresa' (<i>C. limon</i> 'Feminello Santa Teresa', <i>C. limon</i> 'Italian')	Italia	Italia, Noroeste de Argentina, Turquía	Pericarpio, contiene una gran cantidad de aceite esencial. La fruta contiene una gran cantidad de jugo. Esta variedad es resistente al almacenamiento y transporte.
<i>C. limon</i> var. Variegata (<i>C. limon</i> 'Eureka' var. Variegated, Limón de carne rosada.	California, Sicilia	California	Establecido como resultado de la mutación intrínseca de <i>C. limon</i> 'Eureka' en 1931. Tiene pulpa y jugo de un tono rosado. Los frutos son de color amarillo con rayas verdes y hojas abigarradas.
<i>C. limon</i> 'Villafranca'	Sicilia	Florida, Israel, Noroeste de Argentina	Tiene pulpa y jugo de un tono rosado. El fruto es amarillo con rayas verdes.

Tabla 1. Variedades puras de *C. limon*.

Una de las fuentes botánicas más antiguas aún conservadas que describen especies del género *Citrus* es la "Monografía sobre las naranjas de Wên-chou" por Han Yanzhi de 1178^{18,19}. Otros trabajos históricos que describen las especies de cítricos son "Nürnbergische Hesperides" de 1708 y "Traité du Citrus" de 1811. Históricamente, una de las clasificaciones más conocidas de las especies de cítricos es "Histoire Naturelle des Orangers" de 1818. El botánico

estadounidense Walter Tennyson Swingle (1871-1952) tuvo un impacto particularmente significativo en la taxonomía actual del género *Citrus*. Es autor de hasta 95 nombres botánicos de especies del género *Citrus*. Actualmente, la sistemática de las especies del género *Citrus* se basan en estudios de marcadores moleculares y otras tecnologías de análisis de ADN que adía de hoy continúan proporcionando nueva información²⁰.

Nombre	Origen	Características
<i>C. limon</i> 'Lemonima'	Híbrido de <i>C. limon</i> y <i>C. aurantifolia</i>	Tiene un fruto más grande que las limas (<i>C. aurantifolia</i>)
<i>C. limon</i> 'Lumia'	Híbrido de <i>C. maxima</i> y <i>C. medica</i> , posteriormente hibridado con <i>C. limon</i>	La fruta tiene forma de pera. Puede presentar tamaños grandes.
<i>C. limon</i> 'Ponderosa'	Híbrido de <i>C. limon</i> y <i>C. medica</i>	Frutas con forma de pera y pericarpio grueso.
<i>C. limon</i> 'Volkamer'	Híbrido de <i>C. limon</i> y <i>C. aurantium</i>	Frutas más pequeñas que <i>C. limon</i> . La fruta tiene unas pocas semillas y un pericarpio grueso, rugoso y de color rojizo claro. El jugo es amarillo rosáceo. El híbrido es resistente a diversas enfermedades.

Tabla 2. Híbridos de *C. limon*.

3.1 Características botánicas y presencia de *C. limon*

Citrus limon (L.) Burm. f. (limón) es un árbol que alcanza los 2,5-3 m de altura. Tiene hojas lanceoladas perennes. Las flores bisexuales son blancas con un tinte púrpura en los bordes de los pétalos. Se reúnen en pequeños racimos o se producen individualmente, creciendo en axilas foliares. El fruto es una baya verde alargada, ovalada y puntiaguda que se vuelve amarilla durante la maduración. En el interior, la baya se llena de una pulpa jugosa dividida en segmentos. El pericarpio de *C. limon* está hecho de un exocarpio delgado, cubierto de cera, bajo el cual se encuentra la parte externa del mesocarpio, también conocido como flavedo. Esta parte contiene vesículas de aceite y pigmentos carotenoides. La parte interna del mesocarpio, también conocida como albedo, está hecha de un tejido de parénquima blanco esponjoso. El endocarpio, o 'carne frutal', está dividido en segmentos por el tejido esponjoso blanco del mesocarpio².

El árbol de *C. limon* habita de forma preferente lugares soleados. Crece en suelos francos, bien drenados y húmedos con un amplio rango de pH^{1,2}. La ubicación del hábitat natural original de *C. limon* no se conoce con exactitud^{1,21}. Sin embargo, se considera que es nativo del noroeste o noreste de la India^{2,17}.

C. limon es reconocido principalmente como una especie cultivada. Se ha cultivado en

el sur de Italia desde el siglo 3 d.C., y en Irak y Egipto desde el año 700 d.C. Los árabes introdujeron esta especie en España, donde se ha cultivado desde 1150. Las expediciones de Marco Polo también llevaron el limón a China en 1297. Además, fue una de las primeras especies nuevas que Cristóbal Colón introdujo en forma de semillas en el continente norteamericano en 1493. En el siglo XIX, la producción comercial mundial de *C. limon* comenzó en Florida y en California. España es el segundo país productor de limón y líder mundial de exportación en fresco ocupando el segundo lugar en el ranking de países procesadores¹⁷.

4 Monografías de la farmacopea y su uso seguro.

Mediante la técnica de frío-prensado de las partes externas frescas del pericarpio de *C. limon* (se obtiene un aceite esencial: el aceite de limón (lat. *Citrus limon aetheroleum*, *Limonis aetheroleum*, *Oleum Citri*). Esta sustancia es incolora o amarilla y tiene un aroma característico y fuerte a limón²¹. Se considera materia prima reconocida por farmacopea. Sus monografías, tituladas '*Limonis aetheroleum*', están presentes en las Farmacopeas Europea 9²², Americana²³, y Ayurvédica de la India²⁴.

Otra materia prima de farmacopea obtenida de *C. limon* es la parte externa del *mesocarpio* (el flavedo). Su monografía, titulada '*Citrus limon flavedo*', se puede encontrar en ediciones más antiguas de la Farmacopea Francesa²⁵.

C. limon también tiene una recomendación positiva en la Base de Datos de Ingredientes Cosméticos de la Comisión Europea (CosIng Database) como una planta valiosa para la producción de cosméticos²⁶.

La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) clasificó la fruta y las hojas de *C. limon* como materias primas de origen vegetal, en las que hay presencia de ingredientes naturales que pueden suponer una amenaza para la salud humana cuando se utilizan en la producción de alimentos y suplementos dietéticos. La EFSA ha señalado que las sustancias tóxicas en estas materias primas son compuestos fotosensibles pertenecientes al grupo de la furanocumarina, incluyendo bergapteno y oxypeucedanina (Figura 1)²⁷.

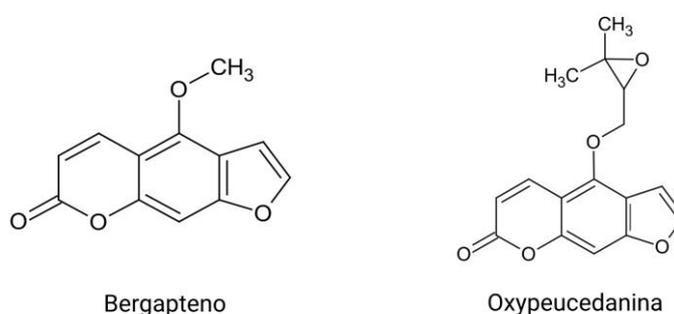


Figura 1. Estructura química de las furanocumarinas lineales seleccionadas, que determina el efecto tóxico de *C. limon*.

En la lista de la Autoridad Americana de Alimentos y Medicamentos (FDA), el aceite esencial y los extractos de *C. limon* se clasifican como productos seguros²⁸.

5 Composición química de *C. limon*

La composición química de la fruta de *C. limon* ha sido ampliamente estudiada. No sólo se ha determinado para la fruta entera, sino también por separado para el pericarpio, jugo, orujo y aceite esencial. También se conocen las sustancias que integran las hojas y el aceite extraído de las semillas de *C. limon*. Debido al gran número de variedades, cultivos e híbridos de *C. limon*, diversos centros de investigación se encargan de analizar las diferencias en la composición química de las materias primas obtenidas a partir de ellos.

El grupo más importante de compuestos bioactivos tanto en la fruta de *C. limon* como en su jugo, son los flavonoides, entre los que predominan: flavononas (eriodictyol), hesperidina, hesperetina, naringina; flavonas (apigenina, diosmina); flavonoles (quercetina); y sus derivados (Figura 2). En el fruto entero, se detectan además otros compuestos de esta familia: flavonoles –limocitrina (Figura 2) y espinacetina– y flavonas –orientina y vitexina (Tablas 3 y 4) –. Algunos flavonoides, como la neohesperidina, la naringina y la hesperidina (Figura 2), son característicos de la fruta de *C. limon*. En comparación con otras especies de *Citrus*, el limón tiene el mayor contenido de eriocitrina (Figura 2)²⁹.

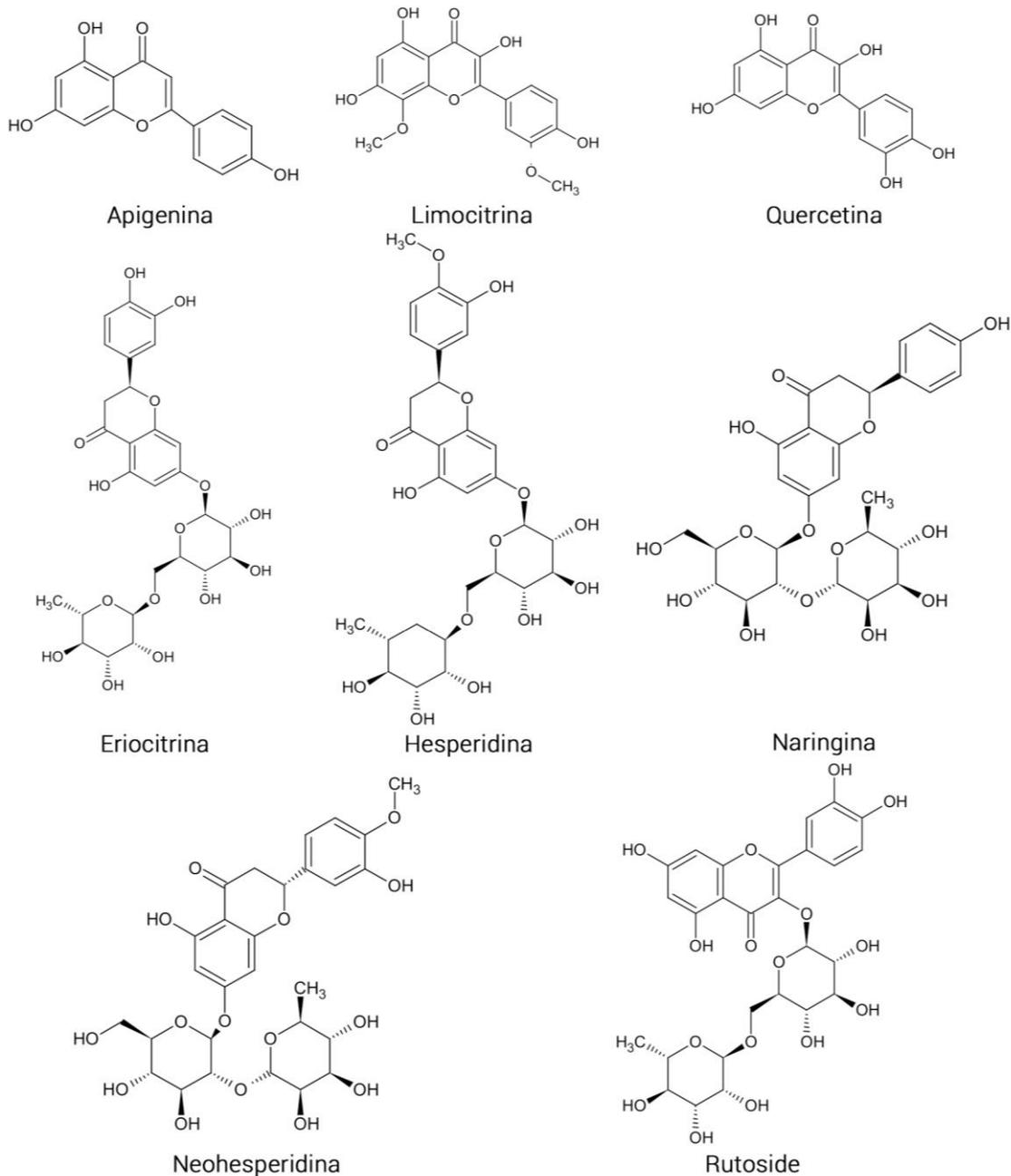


Figura 2. Estructura química de los flavonoides característicos de *C. limon*.

Los ácidos fenólicos son otro grupo importante de compuestos presentes tanto en el jugo como en la fruta. Destacan principalmente el ácido ferúlico y ácido sinápico, además de sus derivados. Por otro lado, se ha confirmado la presencia de ácido p-hidroxibenzoico, así como derivados de cumarina, ácidos carboxílicos, carbohidratos aminoácidos, un complejo

de vitaminas del grupo B y, lo que es más importante, vitamina C (ácido ascórbico) en la fruta (Tablas 3 y 4)^{1,12,13,30–35}.

Grupo de Compuestos	Parte de la fruta	Metabolitos
Flavonoides	Fruto completo	Flavononas: eriocitrina, eriodiktyol, hesperidina, naringina, neoeriocitrina, neohesperidina
		Flavonas: apigenina, diosmetina, diosmina, homoorientina, luteolina, orientina, vitexina
		Flavonoles: isoramnetina, quercetina, limocitrina, rutosido, espinacetina
Limonoides	Fruto completo	Limonina, nomilina
Ácidos fenólicos	Fruto completo	Ácido dihidroxiferúlico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido 3-(2-hidroxi-4-metoxifenil) propanoico, ácido sináptico
Ácidos carboxílicos	Fruto completo	Ácido cítrico, ácido galacturónico, ácido glucorónico, ácido glutámico, ácido homocítrico, 3-hidroximetilglutámico, ácido isocítrico, ácido málico, ácido quínico.
Cumarinas	Fruto completo	Citopteno (5,7-dimetoxicumarina), escopoletina
Furanocumarinas	Fruto completo	Bergamotina
Aminoácidos	Fruto completo	L-alanina, L-arginina, L-asparagina, ácido L-aspartico, dimetilglicina, ácido glutámico, L-fenilalanina, DL-prolina, L-triptófano, L-Tirosina, L-valina
Carbohidratos	Cáscara	Monosacáridos: arabinosa, fructosa, B-fructofuranosa, B-fructopiranososa, galactosa, glucosa, manosa, mioinositol, ramnosa, escilloinositol, xilosa
	Fruto completo	Disacáridos: sacarosa.
Vitaminas y metabolitos		Colina, ácido pantoténico, trigonelina, Vitamina C
Macroelementos	Cáscara y pulpa	Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Fósforo (P), Potasio (K) y sodio (Na).

Tabla 3. Composición del extracto de la fruta de *C. limon*.

Grupo de Compuestos	Metabolitos
Flavonoides	Flavononas: hesperidina y naringina
	Flavonas: apigenina, chrysoeriol, diosmetina, luteolina
	Flavonoles: isoramnezina, quercetina y rutoside
	Dihidroxi flavonoles: dihidroxiisoramnezina-7-O-rutoside
Ácidos fenólicos	Ácido ferúlico y ácido sináptico
Vitaminas	Vitaminas C (53 mg/L), A, B1, B2, B3

Tabla 4. Composición del zumo de la fruta de *C. limon*.

Otro grupo interesante de compuestos presentes en el fruto de *C. limon* son los limonoides. Estas sustancias son metabolitos secundarios altamente oxidados con esqueletos triterpenoides policíclicos. Dentro del fruto, predominan en las semillas, la pulpa y la cáscara. Destacan principalmente dos compuestos de este tipo: *limonina* y *nomilina* (Figura 3)³⁶. Los estudios realizados han demostrado que las concentraciones de los compuestos de este grupo dependen de las etapas de crecimiento y maduración de la fruta. Los cítricos jóvenes presentan mayor contenido en estas moléculas que los maduros³⁷.

El análisis de los macroelementos presentes en el fruto de *C. limon* mostró la presencia en pulpa y cáscara de: calcio (Ca), magnesio (Mg), fósforo (P), potasio (K) y sodio (Na)³⁵.

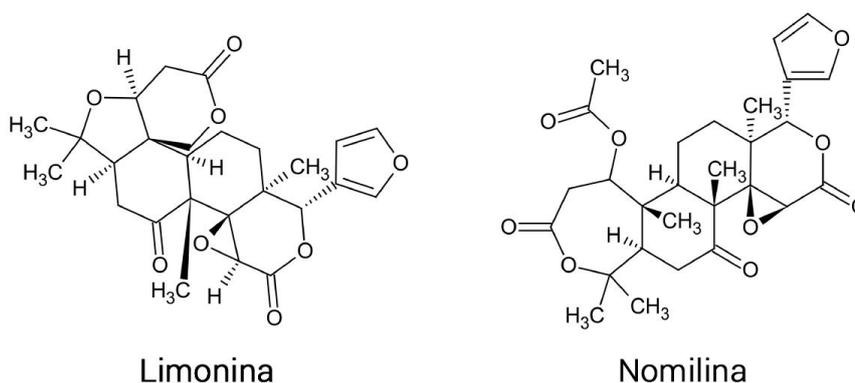


Figura 3. Estructura química de los limonoides característicos de *C. limon*.

En el aceite de semilla de *C. limon*, los ingredientes principales son ácidos grasos, como el ácido araquidónico, el ácido behénico y el ácido linoleico, así como los tocoferoles y carotenoides (Tabla 5)^{32,34}. Estudios recientes han mostrado que el aceite de la pulpa de la fruta contiene más ácidos grasos en comparación con otras especies de cítricos, como *C. aurantium*, *C. reticulata* y *C. sinensis*. Entre ellos, se han identificado: ácido behénico, ácido erúcico, ácido godoico, ácido láurico, ácido linoleico, ácido α -linolénico, ácido margárico, ácido palmítico, ácido palmitoleico, ácido pentadecanoico y ácido esteárico³⁹.

Grupo de componentes	Metabolitos
Ácidos grasos	ácido araquidónico, ácido behénico, ácido lignocérico, ácido linoleico, ácido linolénico, oleico ácido, ácido oleopalmitico, ácido palmítico, ácido esteárico
Tocoferoles	α -tocopherol, β -tocopherol, γ -tocopherol, δ -tocopherol
Carotenoides	β -carotene, β -cryptoxanthin, lutein

Tabla 5. Composición del aceite de las semillas de *C. limon*.

Los principales componentes del aceite esencial del pericarpio del limón son monoterpenoides. Entre ellos, predominan cuantitativamente: limoneno (69,9%), β -pineno (11,2%), γ -terpineno (8,21%), (Figura 4), sabineno (3,9%), mirceno (3,1%), geranial (E-citral, 2,9%), neral (Z-citral, 1,5%), linalool (1,41%). Además de los terpenoides, el aceite esencial también contiene furanocumarinas lineales (psoralenos) y flavonas polimetoxiladas (Tabla 6)^{14,40,41}. En la norma UNE-ISO 855 se especifica ciertas características del aceite esencial del limón, así como el perfil cromatográfico de los principales componentes presentes en el aceite esencial del limón⁹¹.

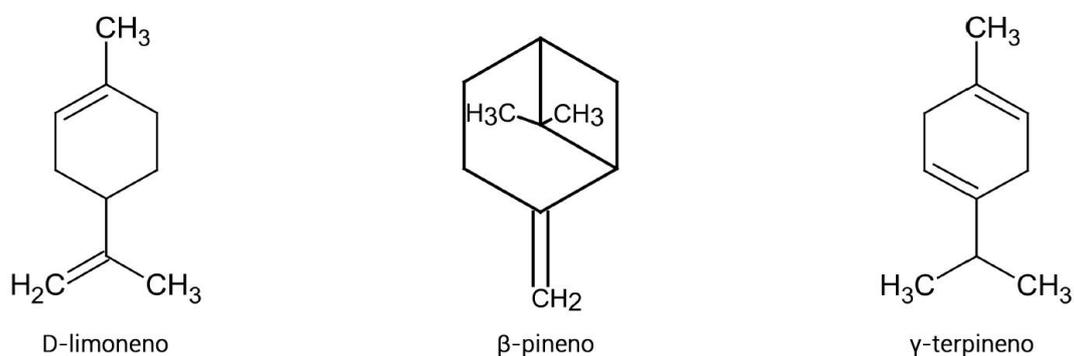


Figura 4. Estructura química de los terpenoides característicos del aceite esencial de *C. limon*.

Grupo de Componentes	Aceite esencial	Metabolitos
Terpenoides	aceite esencial del pericarpio de <i>C. limon</i>	Limoneno (65%), β -pineno (13,25%), γ -terpineno (10%), α -pineno (2,25%), sabineno (2,25%), geranial (E-citral, 1,3%), neral (Z-citral, 0,7%), β -bisaboleno (0,65%), acetato de nerilo (0,45%), acetato de geranilo (0,42%), α -tuyeno (0,35%), α -terpineol (0,25%), p-cimeno (0,2%); otros terpenos por debajo del 0,2%; linalol, β -cariofileno, β -bisabolol, canfeno, citronelal, citronelol, geraniol, trans-muurala-4, 5-dieno, α -terpineno, terpinoleno, nonanal, eucaliptol, acetato de citronelilo, γ -curcumeno, γ -curcumeno, p-cimeno, 7-epi-sesquiterpene, α -farneseno, α -felandren, cis-limoneno, trans-limoneno, octanal, acetato octanal, terpinen-4-ol, santalene, zonarene
	aceite esencial de la hoja de <i>C. limon</i>	Limoneno (31,5%), sabineno (15,9%), citronelal (11,6%), linalol (4,6%), neral (4,5%), geranial (4,5%), (E)- β -ocimeno (3,9%), mirceno (2,9%), citronelol (2,3%), cariofileno (1,7%), terpinen-4-ol (1,4%), geraniol (1,3%), α -pineno (1,2%), α -terpineno (0,9%), silvestreno (0,6%), α -terpineol (0,6%), isogeranial (0,4%), β -bisaboleno (0,3%), germacreno B (0,3%), isospathulenol (0,3%), γ -terpineno (0,2%), terpinoleno (0,2%), isopulegol (0,2%), γ -terpineol (0,2%), decanal (0,2%), δ -elemeno (0,2%), α -humuleno (0,2%), α -cadinol (0,2%), epi- α -bisabolol (0,2%), cis-p-menth-2-en-1-ol (0,1%), isoneral (0,1%), γ -muuroleno (0,1%), espatulenol (0,1%)

Furanocumarinas	aprintina, bergamotina, bergapteno, byakangelicol, byakangelicina, epoxibergamotina, 5- y 8-geranoxipsoraleno, 8 geranyloxypsoraleno, heraclenina, imperatorina, isoimperatorina, isopimpinellina, xantotoxina, oxipucedánina, felopterina, psoraleno
Cumarinas	citropteno, 5-geraniloxi-7-metoxicumarina, herniarina, 5-isopenteniloxi-7-metoxicumarina

Tabla 6. Composición química del aceite esencial del pericarpio y la hoja de *C.limon*.

El aceite esencial de la hoja de *C. limon* difiere en composición del aceite obtenido del pericarpio. Sus principales compuestos son: limoneno (31,5%), sabineno (15,9%), citronelal (11,6%), linalool (4,6%), neral (4,5%), geranial (4,5%), (E)- β -ocimeno (3,9%), mirceno (2,9%), citronelol (2,3%), β -cariofileno (1,7%), terpine-4-ol (1,4%), geraniol (1,3%) y α -pineno (1,2%) (Tabla 6)^{14,16,40-43}.

6 Estudios del perfil metabólico.

El equipo de investigación del departamento de Ciencias Químicas y Geológicas de la Universidad de Módena (Italia) estudió el perfil metabólico de diferentes partes de la fruta de *C. limon* como el flavedo, albedo, pulpa, glándulas de aceite y las semillas de la fruta a través de la espectroscopia de resonancia magnética nuclear de alta resolución de giro de ángulo mágico (HR-MAS RMN)³⁴. Los análisis se realizaron directamente en tejidos intactos sin ninguna manipulación fisicoquímica.

En el flavedo de *C. limon* se detectaron: terpenoides (limoneno, β -pineno y γ -terpineno), aminoácidos (asparagina, arginina, glutamina, prolina), ácidos orgánicos (ácido málico y ácido quínico), osmolitas (estaquidrina), y azúcares (glucosa, fructosa, β -fructofuranosa, mioinositol, scylloinositol y sacarosa) (Tabla 3).

Se ha demostrado la presencia de pequeñas cantidades de aminoácidos (alanina, treonina, valina, glutamina), azúcares (glucosa, sacarosa, β -fructofuranosa, mioinositol, escenoinositol y β -fructopiranososa), y osmolitos (estachidrina, β -hidroxibutirato, etanol) en el albedo del fruto de *C. limon* (Tabla 3). Además, se han identificado flavonoides tales como hesperidina y rutósido mediante cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). El análisis por RMN HR-MAS de la composición de las glándulas oleaginosas mostró la presencia de terpenoides (limoneno, γ -terpineno, β -pineno, α -pineno, geranial, neral, citronellal, mirceno, sabineno, α -thujene, nerol y ésteres de geraniol) y azúcares (glucosa, sacarosa, β -fructofuranosa y β -fructopiranososa). En la pulpa, se han identificado aminoácidos (asparagina, prolina, alanina, ácido γ -aminobutírico (GABA), glutamina, treonina y valina), ácidos orgánicos (ácido cítrico y ácido málico), azúcares (glucosa, sacarosa, β -fructofuranosa, β -fructopiranososa, mioinositol y escicollinositol) y osmolitos (estaquidrina, etanol y metanol) (Tabla 3). El análisis de las semillas por HR-MAS RMN indicó que en su composición son preponderantes los triglicéridos (ácido linoleico, ácido linolénico y sus derivados), azúcares (glucosa y sacarosa), osmolitos (estaquidrina) y trigonelina³⁴.

En otro estudio metabólico se caracterizaron los extractos de la cáscara de la fruta madura de *C. limon*. Contiene catabolitos de clorofila no fluorescentes (NCCs) y catabolitos de clorofila no fluorescentes del tipo dioxobilano (DNCC). En las cáscaras del fruto de *C. limon* se detectaron cuatro NCC diferentes: CI-NCC₁, CI-NCC₂, CI-NCC₃ y CI-NCC₄⁴³.

Por otro lado, se ha revelado la presencia en la hoja del limón de 26 ácidos orgánicos diferentes y sus derivados (ácido aconítico, ácido 2-aminobutírico, ácido 4-aminobutírico, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, ácido

fumárico, ácido glicólico, ácido 3-hidroxi-butírico, ácido 2-isopropilalílico, ácido málico, ácido malónico, ácido 3-metilglutárico, ácido oxámico, ácido D-3-fenilacético, ácido pipercolico, ácido pirúvico, ácido quinico, ácido shiquímico, ácido succínico, ácido treónico, ácido urapónico), 21 aminoácidos (alanina, ácido γ -aminobutírico, ácido antranílico, asparagina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, ácido piroglutámico, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina) y 13 azúcares y alcoholes de azúcar (arabinosa, fructosa, galactosa, glucosa, glicerol, inositol, lioxosa, maltosa, ramnosa, ribosa, sorbosa, sacarosa, xilitol). Además, cuando las hojas estudiadas fueron expuestas a condiciones de estrés inducido por ácido jasmónico y salicílico se incrementó el contenido de aminoácidos⁴⁴.

El perfil de metabolitos volátiles y no volátiles en el aceite esencial de *C. limon* depende del origen geográfico y de los métodos analíticos utilizados. Por ejemplo, el aceite esencial del fruto del limón italiano está enriquecido en α -tujeno, α -pineno, α -terpineno, sesquiterpenoides (β -cariofileno) y furocumarinas (bergamotina). Por otro lado, el aceite esencial los frutos de la planta española y argentina presentan una proporción importante de terpenos como el limoneno, mientras que presentan diferencias a nivel de imperatorina y biacangelicol. En el caso de la fruta española, se encuentra mayor cantidad de alcanfor y 4-534 pineol, mientras que la argentina presenta más hidrato de sabineno y cis-sabineno⁴⁵.

Investigaciones centradas en la identificación de componentes en el aceite esencial de diferentes especies de cítricos, incluyendo *C. limon* mostraron que en general, la mayoría de los componentes de aceites esenciales estudiados se identificaron como monoterpenoides. Para el caso particular del limón se encontraron: limoneno (70,37%), p-mentha-3,8-dieno (18,00%), mirceno (4,40%), α -pineno (3,24%), α -tujeno (1,05%) y terpinoleno (0,90%) (Tabla 6). En menor proporción se hallaron: sabineno (0,28%), α -terpineno (0,22%), trans-muurolo-4(14), 5-dieno (0,18%), eucaliptol (0,12%), acetato de octanol (0,03%), β -cúrcena (0,03%), zonareno (0,03%), 7-epi-sesquitujeno (0,02%), acetato de citronelilo (0,02%) α -farneseno (0,01%) (Tabla 6). El modelo de perfil metabólico mostrado se puede utilizar para discriminar claramente las especies básicas de *Citrus*. Limoneno, α -pineno, sabineno y α -terpineno fueron los principales componentes característicos de los metabolomas analizados de los genotipos de *Citrus* que contribuyeron a su taxonomía¹⁶.

Otro estudio en *C. limon* ha demostrado que el aceite esencial contiene grandes cantidades de furanocumarinas y cumarinas en comparación con otros aceites esenciales de cítricos. En concreto, se han detectado 13 furanocumarinas (bergamotina, bergapteno, byakangelicol, byakangelicina, epoxibergamotina, 8-geraniyloxypsoraleno, heraclenina,

imperatorina, isoimperatorina, isopimpinellina, oxipeucedanina, hidrato de oxipeucedanina, felopterina) y dos cumarinas (citropteno y herniarina) (Tabla 6)⁴².

7 Funcionalidad y efectividad biológica de *C. Limon*.

7.1 Actividad anticancerígena.

Diversos ensayos *in vitro* apoyan la capacidad de los compuestos contenidos en el limón para destruir células cancerosas. Un estudio en el que se emplearon nanovesículas aisladas de jugo de limón demostró que estas inhibían la capacidad proliferativa de diversas líneas celulares tumorales mediante la activación de apoptosis mediada por el ligando TRAIL. Además, también se ha demostrado su efecto *in vivo* en modelos de leucemia mieloide crónica (LMC) mediante su acción específica en células tumorales y la activación de las mismas rutas apoptóticas dependientes de TRAIL (Tabla 7)⁴⁶. Otro trabajo mostró que un extracto de las semillas del limón presentaba capacidad inhibitoria de la proliferación celular en la línea celular modelo de adenocarcinoma de mama MCF-7. Los resultados de este ensayo sugerían que tanto las agliconas como los glucósidos de limonoides y flavonoides presentes en el extracto podrían servir como agentes para prevenir el cáncer de mama (Tabla 7)⁹.

7.2 Actividad antioxidante.

Se ha demostrado que la actividad antioxidante de los flavonoides de *C. limon* (hesperidina y hesperetina) no sólo se limita a su actividad para eliminar radicales libres, sino que también aumenta las defensas celulares antioxidantes a través de la vía de señalización ERK/Nrf2 (Tabla 7)⁸.

7.3 Actividad antiinflamatoria.

Se han llevado a cabo varios estudios *in vitro* e *in vivo* para evaluar la eficacia de metabolitos de la hesperidina o sus derivados sintéticos en la reducción de mediadores de inflamación como NFκB, iNOS o COX2, así como marcadores de inflamación crónica (Tabla 7)⁸. Además, el aceite esencial del limón ha mostrado efectos antiinflamatorios en diferentes modelos animales, comparables a los obtenidos con D-limoneno puro. Los autores de este trabajo proponen que el efecto antiinflamatorio del aceite esencial vendría mediado por la alta concentración de este compuesto presente (Tabla 8)⁴⁸. En línea con estos hallazgos, el potencial antioxidante del D-limoneno se ha puesto de manifiesto en un modelo animal de enfermedad de Crohn, en el cual los sujetos tratados con este compuesto veían

sensiblemente reducida la inflamación intestinal a nivel anatómico, histológico y en cuanto a los niveles de la citoquina pro-inflamatoria TNF α ⁴⁹. Por otro lado, en un modelo experimental de isquemia-reperfusión se ha reportado un efecto hepatoprotector de la limonina, relacionado con su actividad antioxidante y antiinflamatoria, a través de la inhibición de la señalización por receptores tipo Toll (TLR)⁵⁰. En un estudio de actividad enzimática *in vitro*, se ha demostrado la capacidad inhibitoria de la enzima 5-lipooxigenasa (5-LOX) por parte aceite extraído de la piel del limón rosa o variegado. Los autores de este estudio atribuyen esta actividad, directamente ligada a procesos inflamatorios, al alto contenido en D-limoneno de este aceite⁵¹.

7.4 Actividad anti-microbiana

7.4.1 Actividad antibacteriana

La actividad antimicrobiana de diferentes extractos de limón ha sido evaluada en una amplia variedad de trabajos científicos. Otang y Afolayan publicaron recientemente que extractos de piel de limón realizados con solventes orgánicos mostraban capacidad inhibitoria del crecimiento de diversos microorganismos. Entre las bacterias Gram-negativas, destacaron *Samonlella typhimurium* y *Sigella sonnei*, mientras que las Gram-positivas más sensibles fueron *Enterococcus faecalis* y *Bacillus subtilis*. (Tabla 7)⁷.

En otros estudios, los aceites esenciales de la piel del limón también mostraron inhibición del crecimiento de bacterias Gram-positivas (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus capitis* y *Micrococcus luteus*) y Gram-negativas (*Pseudomonas fluorescens*, *Escherichiacoli*) en distintos sistemas experimentales^{51,52}.

Es muy interesante señalar el potencial del aceite esencial de *C. limon* frente a bacterias causantes de caries, como es el caso de *Streptococcus mutans*. Un equipo de investigadores de la Universidad Médica de Tianjin (China) realizó un trabajo en el que se mostraba que el aceite esencial del limón reducía el crecimiento de *S. mutans*, así como su capacidad de adherencia a superficies y la expresión de la enzima glucosil transferasa, estas últimas esenciales para la formación de los biofilms bacterianos responsables de la caries dental (Tabla 8)⁵³.

7.4.2 Actividad antifúngica

Además de la actividad antibacteriana, los extractos con solventes orgánicos de piel de limón también poseen actividad antifúngica frente a *Candida glabrata*, uno de los organismos

causantes de micosis cutáneas superficiales (Tabla 7)⁷. Por otro lado se ha atribuido a los monoterpenos de este tipo de extractos actividad contra *Aspergillus niger*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida parapsilosis* (Tabla 8)^{51,53}. Otro estudio confirmó que el aceite esencial de *C. limon* inhibe el crecimiento de *C. albicans*⁵⁵.

Actividad	Mecanismo de acción	Ref.
Actividad anticancerígena	Inhibición de la proliferación de células cancerosas; Activación de la muerte celular apoptótica mediada por TRAIL; Inhibición del crecimiento tumoral en la leucemia mieloide crónica (LMC); Acción antioxidante e inducción de apoptosis en células MCF-7 (células de adenocarcinoma de mama) (extracto de semilla de <i>C. limon</i>).	9, 46
Actividad antioxidante	Aumento de las defensas celulares antioxidantes a través de la vía de señalización ERK / Nrf2.	8, 47
Actividad antiinflamatoria	Inhibición del factor NF-κB, óxido nítrico (1I) sintasa (iNOS), ciclooxigenasa inducida (COX-2) (hesperidina, hesperitina); Regulación a la baja de la vía de señalización de TLR (limonina).	8, 48, 49, 51
Actividad antibacterial	Actividad inhibidora contra bacterias Gram-positivas: <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> ; Actividad inhibidora frente a bacterias Gram negativas: <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Helicobacter pylori</i> .	5, 7
Actividad antifúngica	Actividad inhibidora frente a cepas de <i>Candida glabrata</i> .	7
Actividad antiviral	Inhibición de la replicación del <i>Herpes simplex</i> .	56
Actividad antialérgica	Inhibición de la secreción de histamina en exudado peritoneal de ratas.	1, 58
Actividad heparorregerativa	Normalización de alanina aminotransferasa (ALAT), fosfatasa alcalina (ALP) y bilirrubina; Reducción de peroxidación lipídica, aumento de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (antioxidantes y hepatoprotectoras).	10
Prevención de la diabetes	Inhibición de la gluconeogénesis (naringenina, hesperitina); Reducción del tiempo de cicatrización de heridas; Aumento de la tasa de crecimiento tisular, síntesis de colágeno y concentración de proteínas e hidroxiprolina.	1, 59
Actividad dietética	Reducción de los lípidos en sangre; Reducción de los niveles de insulina, leptina y adiponectina en sangre.	1, 61
Efectos en el sistema cardiovascular	Mejora de parámetros sanguíneos en dieta destoxicante Disminución del fibrinógeno en sangre; Limitación del daño miocárdico (naringenina);	1, 11, 62
Efectos en el sistema nervioso	Fortalecimiento de la memoria a corto plazo; Efecto ansiolítico	66
Efectos en el sistema óseo	Disminución del número de células multinucleadas positivas para TRAP (nomilina); Disminución de la actividad de reabsorción ósea (nomilina); Regulación descendente de genes específicos de osteoclastos (nomilina).	65, 68

Tabla 7. Actividad Biológica del extracto de *C. limon*.

7.4.3 Actividad antiviral

Además de los efectos antibacterianos y antifúngicos, hay trabajos *in vitro* en los que se ha detectado la capacidad de los aceites esenciales del limón para inhibir la capacidad replicativa del virus Herpes Simplex 1 (HSV-1), causante del herpes labial⁵⁶.

7.5 Efecto anti-parásitos.

El efecto del aceite esencial de *C. limon* en *Sarcoptes scabiei* var. *Cuniculi* (Arador de la sarna) se ha evaluado *in vitro* e *in vivo*. Los resultados de la aplicación *in vitro* mostraron que esta sustancia causó mortalidad en el 100% de los ácaros después de 24 h. La administración *in vivo* de aceite de limón en conejos infectados naturalmente mostró una recuperación completa de los signos clínicos y ausencia de ácaros en el examen microscópico a partir de la segunda semana de tratamiento (Tabla 8)⁵⁷.

7.6 Efecto anti-alérgico.

Se han utilizado extractos acuosos de la cáscara de *C. limon* para investigar sus efectos sobre la liberación de histamina. En un modelo experimental en el que se indujo la liberación de esta sustancia en exudado peritoneal de rata, se demostró que estos extractos inhibían el proceso. Además, eran potenciales supresores de la inflamación de la cavidad peritoneal de ratones en niveles comparables a la indometacina, un compuesto antiinflamatorio bien caracterizado (Tabla 7)⁵⁸.

7.7 Efectos hepáticos.

La capacidad hepatoprotectora y hepatorregenerativa de extractos orgánicos del fruto del limón ha sido evaluada tanto *in vivo* como *in vitro*. En el primer caso, animales de experimentación a los que se les indujo daño hepático con tetracloruro de carbono (CCl₄) tratados posteriormente con extracto de limón experimentaron una normalización de los niveles de transaminasas, fosfatasa alcalina y bilirrubina y una disminución del estrés oxidativo en el hígado, frente a animales sin tratar. Por otro lado, la citotoxicidad generada por CCl₄ *in vitro* en la línea celular hepática humana HepG2 fue revertida de forma dependiente de dosis al aplicar estos extractos¹⁰. Otros estudios con aceite esencial de *C. limon* también han demostrado la estimulación de la desintoxicación hepática mediante la activación del citocromo P₄₅₀ y las enzimas hepáticas (glutatión S-transferasa) en la intoxicación hepática crónica (Tabla 8)²¹.

7.8 Efecto antidiabético

El efecto protector frente a la diabetes de los compuestos contenidos en el limón ha sido contrastado en modelos animales de diabetes inducida por estreptozotocina. Por un lado, extractos obtenidos de la cáscara del limón lograron disminuir la glucemia, reducir el tiempo en la cicatrización de heridas y mejorar la síntesis de proteínas de la matriz cutánea, procesos que se ven alterados en esta patología (Tabla 7)⁶⁰. Por otra parte, en este mismo modelo animal, la administración de D-limoneno puro dio lugar a una disminución de glucemia, proporción de hemoglobina glicada, la actividad de enzimas gluconeogénicas, así como el aumento de la actividad de la glucoquinasa y de la cantidad de glucógeno hepático, frente a individuos diabéticos en ausencia de tratamiento (Tabla 8)⁶¹.

7.9 Aplicaciones dietéticas.

Los estudios han demostrado que el D-limoneno es beneficioso para revertir la dislipidemia e hiperglucemia *in vivo*. En modelos animales, su administración promueve una disminución del colesterol LDL, previene la acumulación de lípidos y regula el nivel de azúcar en la sangre. Además, su acción antioxidante potencia estos efectos. Por otra parte, la suplementación dietética con D-limoneno restauraría la alteración patológica del hígado y del páncreas, pudiendo así ayudar en la prevención de la obesidad (Tabla 8)²¹.

7.10 Efectos en el sistema digestivo

Diversos estudios han demostrado que el D-limoneno aumenta la motilidad gástrica y causa una reducción de las náuseas, neutralización de los ácidos estomacales y alivio del reflujo gástrico (Tabla 8)²¹.

Por otro lado, estudios *in vitro* apoyan que la aplicación de limoneno sobre células intestinales humanas favorece la función barrera del epitelio intestinal, un aspecto de gran relevancia para la regulación del paso de nutrientes al torrente sanguíneo y para la acción de los componentes del sistema inmune⁵⁰

7.11 Efectos en el sistema cardiovascular

Un estudio que abordaba el empleo del jugo de limón como complemento dietético en un régimen de baja ingesta de calorías mostró que este componente causaba una reducción de la proteína C-reativa de alta sensibilidad en suero (hs-CRP) en comparación con el *placebo* y el grupo normal de la dieta. Los niveles de hemoglobina y hematocrito se mantuvieron estables en el grupo en la dieta de desintoxicación de limón, mientras que

disminuyeron en los grupos *placebo* y dieta normal (Tabla 7)⁶¹.

Además, el jugo de limón también ha demostrado efectos positivos a nivel de parámetros de coagulación. Estudios *in vitro* han confirmado que esta sustancia aumenta el tiempo que emplean distintas enzimas pro-coagulantes, como la trombina y la tromboplastina, para ejercer su actividad. Además, en este mismo sistema experimental el jugo de limón redujo la concentración de fibrinógeno, que es un precursor proteico necesario para la formación de coágulos. Por otro lado, la administración de jugo de limón a animales de experimentación aumentó los niveles de glóbulos rojos y hemoglobina y mostró aumentos en el tiempo de sangrado ante una herida y el tiempo de reacción de la trombina. En conjunto, estos resultados apoyan una actividad anti-coagulante del jugo de limón (Tabla 7)¹¹.

El efecto de componentes del limón también ha sido testado en modelos de importantes enfermedades cardiovasculares en el mundo occidental, como los infartos de miocardio. La administración de naringenina en un modelo animal de isquemia-reperfusión en tejido miocárdico ha mostrado mejoras en la función cardíaca y una reducción en el infarto y muerte celular en tejido miocárdico en comparación con animales sin tratar⁶⁴.

7.12 Actividad en el Sistema Nervioso.

La influencia del jugo de *C. limon* en la memoria de ratones se ha investigado utilizando experimentos de observación en el comportamiento de los animales. La evitación pasiva es una de comportamiento animal que es utilizada para evaluar la memoria a corto o largo plazo de animales pequeños, que mide la latencia al entrar en un compartimento negro. Los animales que fueron alimentados con jugo de *C. limon* mostraron un aumento altamente significativo o significativo de la latencia antes de entrar en un compartimento negro después de 3 y 24 h, respectivamente (Tabla 7)⁶². Estos resultados estarían apoyando que el jugo de limón favorece la memoria a corto plazo en animales de experimentación.

Los estudios también han mostrado que el compuesto principal del aceite esencial de *C. limon*, D-limoneno, administrado por vía inhalatoria en ratones, tiene un efecto calmante y ansiolítico significativo activando los receptores de la serotonina y de la dopamina. Además, el D-limoneno tiene un efecto inhibitorio sobre los receptores del dolor, similar a la indometacina y la hioscina, dos analgésicos bien conocidos y caracterizados (Tabla 8)⁶³.

7.13 Actividad en el Sistema óseo.

Los estudios han demostrado el uso potencial de la nomilina, uno de los compuestos presentes en el fruto de *C. limon* (Tabla 3) para la inhibición de la resorción ósea en un

enfoque *in vitro*. La nomilina ha mostrado una reducción significativa en la diferenciación de macrófagos a osteoclastos. Por otra parte, concentraciones no tóxicas de este compuesto disminuyeron la capacidad de resorción del hueso y genes implicados en la regulación específica de osteoclastos. Este trabajo apoya el potencial terapéutico de la nomilina para la prevención de enfermedades metabólicas óseas como la osteoporosis⁶⁵.

Actividad	Mecanismo de acción	Ref.
Actividad anticancerígena	Estimulación de la apoptosis de células de cáncer colorrectal.	69
Actividad antiinflamatoria	Inhibir la migración celular; Inhibición de la producción de citocinas; Inhibición del mediador de la inflamación (D-limoneno); Inhibición de la quimiotaxis leucocitaria (D-limoneno); Interacción con 5-lipoxigenasa, TNF- α (factor de necrosis tumoral), IL-6 (interleucina-6).	48, 51
Actividad antibacteriana	Actividad inhibidora contra bacterias Gram-positivas: <i>Staphylococcus capitis</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> ; Actividad inhibidora frente a bacterias Gram negativas: <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Escherichia coli</i> .	21, 51, 52
Actividad anticaries	Inhibición del crecimiento, la capacidad adhesiva y la expresión de GST en <i>Streptococcus mutans</i> .	53
Actividad antifúngica	Actividad inhibidora contra: <i>Aspergillus niger</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , cepas de <i>Candida parapsilosis</i> (monoterpenos).	
Actividad antiviral	Inhibición del virus <i>Herpes simplex</i> .	56
Actividad antiparásita	Tratamiento de esquistosomiasis causada por <i>Scistosoma mansoni</i> (D-limoneno) Efecto inhibitorio en el desarrollo de <i>Sarcoptes scabiei</i> .	57
Actividad hepatoprotectora y detoxificadora	Estimulación de la desintoxicación del hígado mediante la activación del citocromo P ₄₅₀ y las enzimas hepáticas (glutatión S-transferasa) en la intoxicación crónica del hígado.	70
Prevención de diabetes	Disminución de la hemoglobina glicada (D-limoneno); Disminución de las enzimas de gluconeogénesis: glucosa-6-fosfatasa y fructosa-1,6-bisfosfatasa (D-limoneno); Disminución de la glucemia y hemoglobina glicada (D-limoneno).	60
Actividad antiobesidad	Reducir el colesterol y prevenir los depósitos de grasa (D-limoneno); Igualación del azúcar en sangre (D-limoneno); Regeneración de cambios patológicos en el hígado y páncreas.	71
Efectos en el sistema digestivo	Mayor motilidad gástrica y reducción de las náuseas (D-limoneno); Neutralización de los ácidos del estómago (D-limoneno); Alivio del reflujo gástrico (D-limoneno); Aumento del flujo de bilis.	21
Actividad lipolítica y reducción del colesterol	Reducir el nivel de triglicéridos, LDL y aumentar el nivel de colesterol HDL en la sangre; Reducir los niveles de colesterol y ácido araquidónico mediante la estimulación de las enzimas hepáticas y el citocromo; Efecto lipolítico (γ -terpineno y p-cimeno).	1, 21, 71
Efectos en el sistema nervioso	Efecto inhibitorio sobre los receptores del dolor similar al de la indometacina y la hioscina (D-limoneno); Efecto sedante y ansiolítico al activar los receptores de serotonina y dopamina.	72

Tabla 8. Actividad biológica del aceite esencial de *C. limon* confirmada por investigaciones científicas.

7.14 *C. limon* en farmacia.

Además de los usos tan importantes mencionados anteriormente, el aceite esencial de limón se utiliza en formulaciones farmacéuticas y cosméticas como corrección de sabor y aroma, así como conservante natural, debido a sus efectos antibacterianos y fungistáticos confirmados²¹.

8 *C. limon* en la industria alimentaria

Debido a la rica composición química de la fruta de *C. limón* y otras materias primas derivadas del limón, las aplicaciones en la industria alimentaria y en el procesamiento de alimentos es muy amplia. La fruta del limón se utiliza principalmente como fruta fresca, pero también se procesa para hacer jugos, mermeladas, jaleas, melaza, etc.⁴⁰. La fruta de limón fresca puede mantenerse durante varios meses, manteniendo sus niveles de jugo, vitaminas, minerales, fibra y carbohidratos. El contenido de vitamina C (ácido ascórbico) en las frutas y jugos de limón disminuye durante el almacenamiento y el procesamiento industrial. Los factores que reducen este contenido son: oxígeno, calor, luz, tiempo, temperatura de almacenamiento y duración de almacenamiento. Para evitar la reducción de los niveles de ácido ascórbico y la capacidad antioxidante tanto de la fruta de limón como del jugo de limón, deben mantenerse a 0-5 °C y protegerse de la pérdida de agua mediante un envasado adecuado, con alta humedad relativa durante la distribución. En tales condiciones, los productos del limón muestran una buena retención de vitamina C y capacidad antioxidante^{40,73}.

La cáscara de la fruta de *C. limon* es rica en pectina, que se utiliza en una amplia gama de procesos industriales alimentarios como agente gelificante, incluyendo la producción de mermeladas y jaleas, y como espesante, texturizador, emulsionante y estabilizador en productos lácteos. Debido a sus propiedades gelatinizantes, la pectina también se utiliza en formulaciones farmacéuticas, dentales y cosméticas⁷⁴.

El jugo de limón se utiliza como ingrediente en bebidas, particularmente limonada y refrescos, y en otros alimentos, como aderezos para ensaladas, salsas y productos horneados. El zumo de limón es un aromatizante y conservante natural, y también se utiliza para añadir un sabor ácido, o amargo, a los alimentos y refrescos^{40,75}.

El jugo de *C. limon* es el más adecuado, ya que está libre de residuos de pesticidas, para mejorar el sabor de los licores, por ejemplo, el "limoncello", el licor tradicional de Sicilia. Se hace por la maceración de la cáscara de limón en etanol, agua y azúcar^{40,75}.

Actualmente, dos compuestos aislados del aceite esencial del limón, linalool y citral, se utilizan principalmente como aromatizantes y conservantes naturales debido a sus propiedades funcionales (antimicrobiano, antifúngico, etc.)^{51,2}. En particular, a menudo se utilizan para extender la corta vida útil de los productos del mar y en la producción de algunos tipos de queso porque reducen significativamente las poblaciones de microorganismos, especialmente los de la familia *Enterobacteriaceae*^{40,75}.

9 Aplicaciones en la industria cosmética.

Los extractos de la fruta de *C. limon* y su aceite esencial, así como los compuestos activos aislados de estas materias primas, se han convertido en objeto de numerosos estudios científicos destinados a probar la posibilidad de su uso en cosmetología. Los productos derivados del limón han mostrado desde hace tiempo un efecto positivo en la piel propensa al acné que se ve fácilmente afectada por quemaduras solares o micosis. En este sentido, los usos tradicionales de estas materias primas son conocidos en varias partes del mundo. En Tanzania, el jugo de fruta de *C. limon* se mezcla con albúmina de huevo, miel y pepino, y se aplica a la piel todos los días por la noche para suavizar la piel facial y tratar el acné⁷⁶. El jugo de fruta recién exprimida de *C. limon* mezclado con aceite de oliva se utiliza como un remedio natural para el tratamiento de los trastornos del cabello y el cuero cabelludo en Cisjordania, Palestina⁷⁷. Actualmente, el conocimiento de la actividad cosmética de *C. limon* está en constante expansión.

El aceite esencial de *C. limon* muestra propiedades antibióticas y aromatizantes, y por esta razón se utiliza en formulaciones de champús, pasta de dientes, desinfectantes, ungüentos tópicos y otros cosméticos⁴⁰.

Los estudios científicos han demostrado un efecto antioxidante significativo de los extractos de frutas de *C. limon*, razón por la que se recomienda su uso en cosméticos antienvjecimiento^{8,47}. El uso de diferentes vectores de extractos de *C. limon* (por ejemplo, hialurosomas, glicerosomas) en la tecnología de producción de cosméticos contribuye a una inhibición aún mayor del estrés oxidativo en componentes cruciales de la piel, incluidos los queratinocitos y fibroblastos (Tabla 9)⁷⁸. Además, la vitamina C de *C. limon* se utiliza como ingrediente en dermocosmética especializada. Su aplicación exógena aumenta la producción de colágeno, lo que hace que la piel sea más suave y tersa. Se utiliza en productos antienvjecimiento, para reducir las arrugas superficiales, y como un antioxidante con efecto sinérgico al combinarse con vitamina E⁴⁷.

Los ingredientes del aceite esencial de *C. limon* (incluyendo citral, β -pineno, D-limoneno) presentan un efecto despigmentante mediado por su actividad inhibidora de la enzima tirosinasa⁷⁹. Además, se ha demostrado que el aceite esencial favorece la penetración de lípidos, así como vitaminas hidrosolubles. Por tanto, se puede utilizar como promotor de la penetración de sustancias activas a través de la piel⁸⁰. Además del efecto directo sobre la piel, el aceite esencial también se puede utilizar como conservante natural y como corrector en productos cosméticos. Diferentes estudios han confirmado sus efectos antibacterianos y fungistáticos (Tabla 9)^{7,51,52}.

Actividad	Extractos y Compuestos Testados	Mecanismo de acción
Actividad antioxidante	Aceite esencial de <i>C.limon</i>	Fuerte efecto de reducción de la peroxidación lipídica y reducción de radicales libres <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> ⁷⁸⁻⁷⁹
	Extracto de la fruta de <i>C. limon</i> var. <i>Pompia</i>	El extracto encapsulado en hialurosomas y glicerosomas reduce el estrés oxidativo causado por el peróxido de hidrógeno y la viabilidad de queratinocitos y fibroblastos ⁷⁹ .
Actividad despigmentante	Ingredientes del aceite esencial (B-pineno, citral, D-limoneno)	Los componentes del aceite esencial muestran actividad inhibidora de la tirosinasa. La mezcla de ingredientes de aceites esenciales tiene un efecto inhibidor más fuerte debido a su efecto sinérgico ⁸⁰ .
Efecto aumento de la penetración de sustancias	Aceite esencial de <i>C.limon</i>	Aumento de la penetración de α -tocoferol. Mejora de la penetración de lípidos administrados localmente y vitaminas hidrosolubles ⁸¹ .
Efecto en cosmética	Aceite esencial de <i>C.limon</i>	Actividad antibacteriana y aumento del efecto fungistático de los conservantes sintéticos ^{7,51,52} .

Tabla 9. Actividad biológica de los extractos, aceite esencial e ingredientes de la fruta de *C. limon* desde el punto de vista de la industria cosmética.

Además, el extracto del pericarpio de la *C. limon*, también ayuda a acelerar la regeneración de heridas diabéticas. Además, el aceite esencial derivado del pericarpio de *C. limon* ha mostrado propiedades antiinflamatorias, antialérgicas y adelgazantes^{48,58,59,61}.

Según la base de datos de CosIng (Base de datos de ingredientes cosméticos), *C. limon* se puede utilizar en veintitrés formas diferentes: como aceites obtenidos de diversos órganos, en forma de extractos, hidrolatos, partes en polvo de la planta, cera y jugo²⁶. La actividad más común definida por CosIng para la materia prima de esta especie es mantener la piel en buenas condiciones, mejorar el olor de los productos cosméticos y enmascarar el olor de otros ingredientes de las preparaciones cosméticas²⁶. Las formas aprobadas de materias primas y sus posibles efectos, así como su uso como correctores se resumen en la

tabla 10²⁶.

The form	Activity
C. limon (lemon)/Fucus serratus extract	skin conditioning
C. limon bud extract humectant,	skin conditioning
C. limon flower water humectant, skin conditioning	skin conditioning
C. limon flower/leaf/stem extract	masking, skin conditioning, tonic
C. limon flower/leaf/stem	oil masking
C. limon fruit extract masking, skin conditioning	masking, skin conditioning
C. limon fruit oil astringent, tonic	astringent, tonic
C. limon fruit powder	skin conditioning
C. limon fruit water	masking, skin conditioning
C. limon juice	skin conditioning, tonic
C. limon juice extract	tonic
C. limon juice powder	skin conditioning, tonic
C. limon leaf extract	perfuming
C. limon leaf oil	perfuming, masking
C. limon leaf/peel/stem oil skin conditioning	skin conditioning
C. limon peel	masking, skin conditioning
C. limon peel cera/C. limon peel wax	skin conditioning
C. limon peel extract	emollient, skin conditioning, skin protecting, tonic
C. limon peel oil	masking, perfuming, skin conditioning
C. limon peel powder	absorbent, viscosity controlling
C. limon peel water	skin conditioning
C. limon seed oil	masking, perfuming, skin conditioning

Tabla 10. *C. limon* en productos cosméticos de acuerdo a CosIng.

El aceite esencial de *C. limon* se ha utilizado desde el siglo XVIII en la producción de la famosa 'Eau de Cologne'. En aromaterapia, se utiliza para tratar numerosas enfermedades y dolencias relacionadas con el estilo de vida: hipertensión, neurosis, ansiedad, varices, artritis, reumatismo y pesadez mental. También alivia los síntomas característicos de la menopausia. Como uso adicional, se emplea al hacer masajes para relajar los músculos y promover la calma y relajación profundas²¹.

A pesar de los efectos beneficiosos de los compuestos presentes en el limón, sus extractos y aceite esencial de la fruta de *C. limon* no deben utilizarse en altas concentraciones en baños o directamente sobre la piel. En este sentido, estudios recientes han demostrado que el D-limoneno contenido en el aceite tiene un efecto alergénico e irritante en la piel. Tras la aplicación de cosméticos que contienen aceite de *C. limon*, no se debe exponer la piel a la luz solar, ya que contiene compuestos fotosensibilizantes pertenecientes al grupo de la furanocumarina lineal. El pericarpio de limón contiene: bergapteno, felopterina, 5- y 8-geranoxipsoraleno, y el aceite esencial contiene: bergapteno, imperatorina, isopimpinellina, xanthotoxina, oxipeucedanina y psoraleno^{21,81}.

La Asociación Internacional de Fragancias (IFRA) ha emitido restricciones sobre el uso del aceite esencial de *C. limon*. En las preparaciones que permanecen en la piel, la concentración de ese aceite no debe exceder el 2%. Además, el aceite esencial de *C. limon* no debe usarse en preparaciones que permanezcan en la piel expuesta a los rayos UV. No deben contener más de 15 ppm de bergapteno⁸².

10 Estudios de Biotecnología vegetal en *C. limon*

La biotecnología vegetal crea oportunidades para el uso potencial de cultivos *in vitro* de plantas en las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria. Los cultivos *in vitro* pueden ser una buena alternativa al cultivo en campo. La biotecnología vegetal permite el control y optimización de las condiciones para la realización de cultivos *in vitro* para aumentar la acumulación de compuestos activos. Facilita, entre otras cosas, la optimización del medio de cultivo, incluyendo la concentración de reguladores de crecimiento y desarrollo de plantas, el uso de elicitores (sustancias que simulan un daño a la planta y facilitan la producción de metabolitos secundarios, como los flavonoides), la selección de líneas celulares altamente productivas y transformaciones genéticas. Los cultivos *in vitro* también pueden utilizarse en la propagación de plantas (proceso de micropropagación)⁸³.

Los cultivos *in vitro* de *C. limon* han sido hasta ahora objeto de investigaciones relacionadas con el desarrollo de protocolos de micropropagación. Se han centrado en la selección de reguladores de crecimiento de plantas (PGRs) que inducen la producción de brotes y raíces en cultivos *in vitro*⁸⁴⁻⁸⁷.

11 Biodisponibilidad de los nutrientes de *C. limon*.

La biodisponibilidad de los compuestos bioactivos depende principalmente de la estructura química, los efectos de la matriz y las interacciones. El procesamiento de alimentos puede usarse para estabilizar y producir productos con una vida útil más larga, pero también puede usarse para aumentar la biodisponibilidad. Los estudios sobre bioactividad implican experimentos *in vivo* con seres humanos, aunque los métodos *in vitro* son útiles para determinar la estabilidad en condiciones gastrointestinales. La mayoría de los modelos dinámicos de digestión no simulan todo el tracto gastrointestinal humano, sino solo la parte superior. Los sistemas dinámicos más complejos comprenden dos compartimentos, que simulan el estómago y el intestino delgado. Otros modelos incluyen la reproducción estática *in vitro* de la cavidad bucal y la saliva acoplada a un modelo gastrointestinal dinámico controlado por computadora con condiciones controladas (temperatura, secreción enzimática, pH y movimientos peristálticos)⁸⁸.

Hasta la fecha, diferentes enfoques de formulación, que incluyen potenciadores de absorción, la transformación estructural (por ejemplo, profármacos, glicosilación) o tecnologías farmacéuticas (por ejemplo, complejos portadores, nanotecnología, cocrisales), se han

desarrollado para eludir el problema de la baja biodisponibilidad de los flavonoides activos del jugo de *C. limon* mediante la mejora de su solubilidad y un aumento en la tasa de disolución, el aumento de su permeación de la mucosa, la prevención de su degradación o metabolismo en el tracto gastrointestinal y su entrega directamente al tracto fisiológico. Como era de esperar, mediante el uso de estas estrategias, el comportamiento farmacocinético de varios flavonoides se ha mejorado en gran medida, lo que es beneficioso para mejorar su actividad biológica y su posterior aplicación clínica⁸⁹.

Otro estudio relacionado con la biodisponibilidad de Vitamina C, demostró que la encapsulación de la vitamina C en nuevos tipos de liposomas causa un aumento de la biodisponibilidad de la vitamina C a nivel fisiológico, sin comprometer su potencia a nivel celular. El estudio clínico se llevó a cabo comparando con la ingesta oral de Vitamina C libre⁹⁰.

12 Conclusiones

La revisión presentada demuestra que *C. limon* y especialmente su fruto, el limón, es un alimento muy versátil para la prevención y tratamiento de diversas condiciones patológicas y relacionadas con la edad. La fruta *C. limon* es una materia prima que se puede utilizar de diversas formas: extracto, jugo y aceite esencial. La rica composición química de esta especie determina una amplia gama en su actividad biológica y su uso recomendado en fitofarmacología. Los estudios se han centrado en el aceite esencial y su principal compuesto activo: el D-limoneno. Los extractos de frutas de *C. limon* son ricos en flavonoides como la naringenina, la hesperetina y la hesperidina.

Los estudios farmacológicos actuales han confirmado las actividades biológicas saludables de la fruta de *C. limon*, especialmente sus propiedades anticancerígenas y antioxidantes. *C. limon* también encuentra una aplicación cada vez mayor en cosmetología y producción de alimentos.

El gran potencial de la fruta de *C. limon* en cuanto a eficacia y funcionalidad biológica aportada por la bibliografía de esta revisión, demuestra que queda mucho camino todavía en cuanto al conocimiento científico sobre este versátil fruto. La amplia variedad de nutrientes presentes en el limón ha centrado los estudios en los nutrientes más abundantes como la Vitamina C o el D-limoneno. Sin embargo, encontramos innumerables compuestos que son potenciales nutrientes que podrían demostrar funcionalidad y actividad biológica a unas concentraciones mayores a las que se encuentra en el jugo del limón, tales como la hesperidina entre otros.

Muchos de los compuestos presentes en el jugo de limón podrían presentar dificultades para su absorción en el intestino y demostrar un efecto fisiológico debido a la matriz y el entorno en el que se encuentran. La inestabilidad física, temperatura, el entorno enzimático o el pH son factores a tener en cuenta. A este respecto, en futuros estudios tanto *in vitro* como *in vivo* deberían tenerse en cuenta los siguientes aspectos para superar las barreras y, en consecuencia, optimizar la bioaccesibilidad de estos compuestos fuera de la matriz alimentaria de *C. limon*. En primer lugar, se deben centrar más esfuerzos en la modificación de los sistemas de administración oral mediante la exploración de algunas técnicas y procedimientos convenientes y seguros y mediante el uso de algunos materiales naturales biocompatibles o portadores como liposomas.

En segundo lugar, muchos estudios relacionados todavía se mantienen a nivel de laboratorio, llegando en el mejor de los casos a estudios *in vivo* en grupos muy controlados de

animales de experimentación. En estos casos, sería muy deseable traducir los logros del laboratorio en productos e impulsar posteriormente ensayos clínicos de seguridad y eficacia en grupos de individuos humanos. Esto se puede lograr mediante la mejora de la carga útil de los nutrientes en las matrices de ingesta oral, el uso de excipientes de bajo costo, y la investigación sistemática de la estabilidad *in vivo*, biodistribución, y la eficacia del tratamiento de la enfermedad. Estamos convencidos de que, con el diseño racional y los estudios continuos e innovadores, se puede prever un futuro brillante para los nutrientes activos de *C. limon* y su potencial en la actividad biológica, farmacológica y alimentaria.

13 Referencias y notas

1. Goetz, P. *Citrus limon* (L.) Burm. f. (Rutacées). Citronnier. *Phytotherapie* **2014**, *12*, 116–121.
2. Mabberley, D.J. *Citrus* (Rutaceae): A review of recent advances in etymology, systematics and medical applications. *Blumea J. Plant Taxon. Plant Geogr.* **2004**, *49*, 481–498.
3. Papp, N.; Bartha, S.; Boris, G.; Balogh, L. Traditional uses of medicinal plants for respiratory diseases in Transylvania. *Nat. Prod. Commun.* **2011**, *6*, 1459–1460. [CrossRef]
4. Clement, Y.N.; Baksh-Comeau, Y.S.; Seaforth, C.E. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Trinidad. *J. Ethnobiol. Ethnomed.* **2015**, *11*, 1–28.
5. Bhatia, H.; Pal Sharma, Y.; Manhas, R.K.; Kumar, K. Traditional phyto-remedies for the treatment of menstrual disorders in district Udhampur, J&K, India. *J. Ethnopharmacol.* **2015**, *160*, 202–210.
6. Balogun, F.O.; Ashafa, A.O.T. A review of plants used in South African Traditional Medicine for the management and treatment of hypertension. *Planta Med.* **2019**, *85*, 312–334.
7. Otang, W.M.; Afolayan, A.J. Antimicrobial and antioxidant efficacy of *Citrus limon* L. peel extracts used for skin diseases by Xhosa tribe of Amathole District, Eastern Cape, South Africa. *S. Afr. J. Bot.* **2016**, *102*, 46–49.
8. Parhiz, H.; Roohbakhsh, A.; Soltani, F.; Rezaee, R.; Iranshahi, M. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: An updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phyther. Res.* **2015**, *29*, 323–331.
9. Kim, J.; Jayaprakasha, G.K.; Uckoo, R.M.; Patil, B.S. Evaluation of chemopreventive and cytotoxic effect of lemon seed extracts on human breast cancer (MCF-7) cells. *Food Chem. Toxicol.* **2012**, *50*, 423–430.
10. Bhavsar, S.K.; Joshi, P.; Shah, M.B.; Santani, D.D. Investigation into hepatoprotective activity of *Citrus limon*. *Pharm. Biol.* **2007**, *45*, 303–311.
11. Riaz, A.; Khan, R.A.; Mirza, T.; Mustansir, T.; Ahmed, M. In vitro/in vivo effect of *Citrus limon* (L. Burm. f.) juice on blood parameters, coagulation and anticoagulation factors in rabbits. *Pak. J. Pharm. Sci.* **2014**, *27*, 907–915.
12. Abad-García, B.; Garmón-Lobato, S.; Berrueta, L.A.; Gallo, B.; Vicente, F. Characterization of 58 phenolic compounds in *Citrus* fruit juices from Spanish cultivars by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection coupled to electrospray ionization quadrupole mass spectrometry. *Talanta* **2012**, *99*, 213–224.

13. García-Salas, P.; Gómez-Caravaca, A.M.; Arráez-Román, D.; Segura-Carretero, A.; Guerra-Hernández, E.; García-Villanova, B.; Fernández-Gutiérrez, A. Influence of technological processes on phenolic compounds, organic acids, furanic derivatives, and antioxidant activity of whole-lemon powder. *Food Chem.* **2013**, *141*, 869–878.
14. Russo, M.; Bonaccorsi, I.; Costa, R.; Trozzi, A.; Dugo, P.; Mondello, L. Reduced time HPLC analyses for fast quality control of citrus essential oils. *J. Essent. Oil Res.* **2015**, *27*, 307–315.
15. Talon, M.; Gmitter, F.G. *Citrus* genomics. *Int. J. Plant Genomics.* **2008**, *2008*, 1–17.
16. Jing, L.; Lei, Z.; Zhang, G.; Pilon, A.C.; Huhman, D.V.; Xie, R.; Xi, W.; Zhou, Z.; Sumner, L.W. Metabolite profiles of essential oils in citrus peels and their taxonomic implications. *Metabolomics* **2015**, *11*, 952–963.
17. Citrus Page. Available online: <http://citruspages.free.fr> (accessed on 28 August 2019).
18. Hagerty, M. Monograph on the Oranges of Wen-chou, Chekiang. *Leiden Brill EJ* **1923**, *2*, 63–69.
19. Herbert, S.; Webber, J. History and development of the *Citrus* Industry, Revised by Reuther W and Berkley HWL. *Univ. Calif.* **1943**, *1*, 1–3.
20. Swingle, W.T. *The Botany of Citrus and Its Wild Relatives of the Orange Subfamily (Family Rutaceae, Subfamily Aurantioideae)*; Univ. of California Press: Berkeley, CA, USA, 1943.
21. Millet, F. Huiles essentielles et essence de citronnier (*Citrus limon* (L.) Burm. f.). *Phytotherapie* **2014**, *12*, 89–97.
22. European Directorate for the Quality of Medicines. *European Pharmacopoeia 9.2, Lemon Oil*; European Directorate for the Quality of Medicines: Strasburg, Germany, 2017.
23. The United States Pharmacopoeial Convention. *United States Pharmacopoeia. National Formulary*; The United States Pharmacopoeial Convention: Rockville, MD, USA, 2009.
24. Ministry of Health and Family Welfare. Citrus limon (Linn) Burm. f. In *the Ayurvedic Pharmacopoeia of India (IV)*; Ministry of Health and Family Welfare, Government of India: New Delhi, India, 2017.
25. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé, France. *French Pharmacopoeia*, 10th ed.; *Citrus limon* Flavedo; Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé: Saint-Denis, France, 1998.
26. Cosmetic Ingredient Database (CosIng). Available online: https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/cosing_en (accessed on 1 September 2019).
27. European Food Safety Authority (EFSA). Available online: <http://www.efsa.europa.eu/> (accessed on 3 September 2019).

28. U. S. Food & Drug Administration. Available online: <https://www.fda.gov/> (accessed on 3 September 2019).
29. Robards, K.; Antolovich, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A review. *Analyst* **1997**, *122*, 11–34.
30. Ledesma-Escobar, C.A.; Priego-Capote, F.; Luque De Castro, M.D. Characterization of lemon (*Citrus limon*) polar extract by liquid chromatography-tandem mass spectrometry in high resolution mode. *J. Mass Spectrom.* **2015**, *50*, 1196–1205.
31. Kaya, M.; Sousa, A.G.; Crépeau, M.J.; Sørensen, S.O.; Ralet, M.C. Characterization of citrus pectin samples extracted under different conditions: Influence of acid type and pH of extraction. *Ann. Bot.* **2014**, *114*, 1319–1326.
32. Malacrida, C.R.; Kimura, M.; Jorge, N. Phytochemicals and antioxidant activity of citrus seed oils. *Food Sci. Technol. Res.* **2012**, *18*, 399–404.
33. Gattuso, G.; Barreca, D.; Gargiulli, C.; Leuzzi, U.; Caristi, C. Flavonoid composition of citrus juices. *Molecules* **2007**, *12*, 1641–1673.
34. Mucci, A.; Parenti, F.; Righi, V.; Schenetti, L. Citron and lemon under the lens of HR-MAS NMR spectroscopy. *Food Chem.* **2013**, *141*, 3167–3176.
35. Czech, A.; Zarycka, E.; Yanovych, D.; Zasadna, Z.; Grzegorzczak, I.; Kłys, S. Mineral content of the pulp and peel of various *Citrus* fruit cultivars. *Biol. Trace Elem. Res.* **2019**.
36. Gualdani, R.; Cavalluzzi, M.M.; Lentini, G.; Habtemariam, S. The chemistry and pharmacology of citrus limonoids. *Molecules* **2016**, *21*, 1530.
37. Huang, S.; Liu, X.; Xiong, B.; Qiu, X.; Sun, G.; Wang, X.; Zhang, X.; Dong, Z.; Wang, Z. Variation in limonin and nomilin content in citrus fruits of eight varieties determined by modified HPLC. *Food Sci. Biotechnol.* **2019**, *28*, 641–647.
38. Lamine, M.; Gargouri, M.; Rahali, F.Z.; Mliki, A. Authentication of *Citrus* fruits through a comprehensive fatty acid profiling and health lipid indices: A nutraceutical perspectives. *J. Food Meas. Charact.* **2019**, *13*, 2211–2217.
39. Kaskoos, R.A. Essential oil analysis by GC-MS and analgesic activity of *Lippia citriodora* and *Citrus limon*. *J. Essent. Oil-Bear. Plants* **2019**, *22*, 273–281.
40. González-Molina, E.; Domínguez-Perles, R.; Moreno, D.A.; García-Viguera, C. Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2010**, *51*, 327–345.
41. Owolabi, M.S.; Avoseh, O.N.; Ogunwande, I.A.; William, N.; Ogungbo, R.; Ogundajo, A.L.; Lawal, O.A.; Flamini, G. Chemical composition of *Citrus limon* (L.) Osbeck growing in Southwestern Nigeria: Essential oil chemotypes of both peel and leaf of lemon. *Am. J. Essent. Oils Nat. Prod.* **2018**, *6*, 36–40.

42. Masson, J.; Liberto, E.; Beolor, J.C.; Brevard, H.; Bicchi, C.; Rubiolo, P. Oxygenated heterocyclic compounds to differentiate *Citrus* spp. essential oils through metabolomic strategies. *Food Chem.* **2016**, *206*, 223–233.
43. Ríos, J.J.; Roca, M.; Pérez-Gálvez, A. Systematic HPLC/ESI-high resolution-qTOF-MS methodology for metabolomic studies in nonfluorescent chlorophyll catabolites pathway. *J. Anal. Methods Chem.* **2015**, *2015*, 1–10.
44. Asai, T.; Matsukawa, T.; Kajiyama, S. Metabolic changes in *Citrus* leaf volatiles in response to environmental stress. *J. Biosci. Bioeng.* **2016**, *121*, 235–241.
45. Mehl, F.; Marti, G.; Boccard, J.; Debrus, B.; Merle, P.; Delort, E.; Baroux, L.; Raymo, V.; Velazco, M.I.; Sommer, H.; et al. Differentiation of lemon essential oil based on volatile and non-volatile fractions with various analytical techniques: A metabolomic approach. *Food Chem.* **2014**, *143*, 325–335.
46. Raimondo, S.; Naselli, F.; Fontana, S.; Monteleone, F.; Lo Dico, A.; Saieva, L.; Zito, G.; Flugy, A.; Manno, M.; Di Bella, M.A.; et al. *Citrus limon*-derived nanovesicles inhibit cancer cell proliferation and suppress CML xenograft growth by inducing TRAIL-mediated cell death. *Oncotarget* **2015**, *6*, 19514–19527.
47. Xavier, S.M.; Barbosa, C.O.; Barros, D.O.; Silva, R.F.; Oliveira, A.A.; Freitas, R.M. Vitamin C antioxidant effects in hippocampus of adult Wistar rats after seizures and status epilepticus induced by pilocarpine. *Neurosci. Lett.* **2007**, *420*, 76–79.
48. Amorim, J.L.; Simas, D.L.R.; Pinheiro, M.M.G.; Moreno, D.S.A.; Alviano, C.S.; DaSilva, A.J.R.; Fernandes, P.D. Anti-inflammatory properties and chemical characterization of the essential oils of four *Citrus* species. *PLoS ONE* **2016**, *11*, 1–18.
49. D'Alessio, P.A.; Ostan, R.; Bisson, J.F.; Schulzke, J.D.; Ursini, M.V.; Béné, M.C. Oral administration of D-limonene controls inflammation in rat colitis and displays anti-inflammatory properties as diet supplementation in humans. *Life Sci.* **2013**, *92*, 1151–1156.
50. Mahmoud, M.F.; Gamal, S.; El-Fayoumi, H.M. Limonin attenuates hepatocellular injury following liver ischemia and reperfusion in rats via toll-like receptor dependent pathway. *Eur. J. Pharmacol.* **2014**, *740*, 676–682.
51. Hamdan, D.; Ashour, M.L.; Mulyaningsih, S.; El-Shazly, A.; Wink, M. Chemical composition of the essential oils of variegated pink-fleshed lemon (*Citrus x limon* L. Burm. f.) and their anti-inflammatory and antimicrobial activities. *Zeitschrift fur Naturforsch. -Sect. C J. Biosci.* **2013**, *68C*, 275–284.
52. Espina, L.; Somolinos, M.; Ouazzou, A.A.; Condón, S.; García-Gonzalo, D.; Pagán, R. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in fruit juices by combined treatments of citrus fruit essential oils and heat. *Int. J. Food Microbiol.* **2012**, *159*, 9–16.
53. Liu, Y.; Zhang, X.; Wang, Y.; Chen, F.; Yu, Z.; Wang, L.; Chen, S.; Guo, M. Effect of citrus lemon oil on growth and adherence of *Streptococcus mutans*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*

2013, 29, 1161–1167.

54. Lamine, M.; Rahali, F.Z.; Hammami, M.; Mliki, A. Correlative metabolite profiling approach to understand antioxidant and antimicrobial activities from citrus essential oils. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2019**, *54*, 2615–2623.
55. Guerrini, A.; Rossi, D.; Grandini, A.; Scalvenzi, L.; Rivera, P.F.N.; Andreotti, E.; Tacchini, M.; Spagnoletti, A.; Poppi, I.; Maietti, S.; et al. Biological and chemo-diverse characterization of Amazonian (Ecuador) *Citrus petitgrains*. *J. Appl. Bot. Food Qual.* **2014**, *87*, 108–116.
56. Minami, M.; Kita, M.; Nakaya, T.; Yamamoto, T.; Kuriyama, H.; Imanishi, J. The inhibitory effect of essential oils on herpes simplex virus type-1 replication in vitro. *Microbiol. Immunol.* **2003**, *47*, 681–684.
57. Aboelhadid, S.M.; Mahrous, L.N.; Hashem, S.A.; Abdel-Kafy, E.M.; Miller, R.J. In vitro and in vivo effect of Citrus limon essential oil against sarcoptic mange in rabbits. *Parasitol. Res.* **2016**, *115*, 3013–3020.
58. Tsujiyama, I.; Mubassara, S.; Aoshima, H.; Hossain, S.J. Anti-histamine release and anti-inflammatory activities of aqueous extracts of citrus fruits peels. *Orient. Pharm. Exp. Med.* **2013**, *13*, 175–18.
59. Mohanapriya, M.; Ramaswamy, L.; Rajendran, R. Health and medicinal properties of lemon (*Citrus limonum*). *Int. J. Ayurvedic Herb. Med.* **2013**, *1*, 1095–1100.
60. Murali, R.; Saravanan, R. Antidiabetic effect of d-limonene, a monoterpene in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biomed. Prev. Nutr.* **2012**, *2*, 269–275.
61. Kim, M.J.; Hwang, J.H.; Ko, H.J.; Na, H.B.; Kim, J.H. Lemon detox diet reduced body fat, insulin resistance, and serum hs-CRP level without hematological changes in overweight Korean women. *Nutr. Res.* **2015**, *35*, 409–420.
62. Memory boosting effect of Citrus limon, Pomegranate and their combinations. *Pak J Pharm Sci.* **2014**, *27*(6):1837-40.
63. Lima, N.G.P.B.; De Sousa, D.P.; Pimenta, F.C.F.; Alves, M.F.; De Souza, F.S.; MacEdo, R.O.; Cardoso, R.B.; De Moraes, L.C.S.L.; Melo Diniz, M.D.F.F.; De Almeida, R.N. Anxiolytic-like activity and GC-MS analysis of (R)-(+)-limonene fragrance, a natural compound found in foods and plants. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **2013**, *103*, 450–454.
64. Naringenin Attenuates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury via cGMP-PKG1 α Signaling and In Vivo and In Vitro Studies. *Oxid Med Cell Longev* **2019**, 2019: 7670854.
65. Kimira, Y.; Taniuchi, Y.; Nakatani, S.; Sekiguchi, Y.; Kim, H.J.; Shimizu, J.; Matsumoto, A.; Mano, H. Citrus limonoid nomilin inhibits osteoclastogenesis in vitro by suppression of NFATc1 and MAPK signaling pathways. *Phytomedicine* **2015**, *22*, 1120–1124.
66. Riaz, A.; Khan, R.A.; Algahtani, H.A. Memory boosting effect of *Citrus limon*, pomegranate and their combinations. *Pak. J. Pharm. Sci.* **2014**, *27*, 1837–1840.

67. Nie, Y.C.; Wu, H.; Li, P.B.; Luo, Y.L.; Long, K.; Xie, L.M.; Shen, J.G.; Su, W.W. Anti-inflammatory effects of naringin in chronic pulmonary neutrophilic inflammation in cigarette smoke-exposed rats. *J. Med. Food* **2012**, *15*, 894–900.
68. Shen, C.L.; Smith, B.J.; Lo, D.F.; Chyu, M.C.; Dunn, D.M.; Chen, C.H.; Kwun, I.S. Dietary polyphenols and mechanisms of osteoarthritis. *J. Nutr. Biochem.* **2012**, *23*, 1367–1377.
69. Jia, S.S.; Xi, G.P.; Zhang, M.; Chen, Y.B.; Lei, B.; Dong, X.S.; Yang, Y.M. Induction of apoptosis by D-limonene is mediated by inactivation of Akt in LS174T human colon cancer cells. *Oncol. Rep.* **2013**, *29*, 349–354.
70. Elegbede, J.A.; Maltzman, T.H.; Elson, C.E.; Gould, M.N. Effects of anticarcinogenic monoterpenes on phase ii hepatic metabolizing enzymes. *Carcinogenesis* **1993**, *14*, 1221–1223.
71. Jing, L.; Zhang, Y.; Fan, S.; Gu, M.; Guan, Y.; Lu, X.; Huang, C.; Zhou, Z. Preventive and ameliorating effects of citrus D-limonene on dyslipidemia and hyperglycemia in mice with high-fat diet-induced obesity. *Eur. J. Pharmacol.* **2013**, *715*, 46–55.
72. Komiya, M.; Takeuchi, T.; Harada, E. Lemon oil vapor causes an anti-stress effect via modulating the 5-HT and DA activities in mice. *Behav. Brain Res.* **2006**, *172*, 240–249.
73. Martí, N.; Mena, P.; Cánovas, J.A.; Micol, V.; Saura, D. Vitamin C and the role of citrus juices as functional food. *Nat. Prod. Commun.* **2009**, *4*, 677–700.
74. Kanmani, P. Extraction and analysis of pectin from *Citrus* peels: Augmenting the yield from *Citrus limon* using statistical experimental design. *Iran. J. energy Environ.* **2014**, *5*, 303–312.
75. Pearson, D.R.; Aranof, S.L.; Hillman, J.A.; Koplan, S.; Okun, D.T.; Lane, C.R. *Lemon juice from Argentina and Mexico*; U.S. International Trade Commission: Washington, DC, USA, 2006.
76. Fongnzossie, E.F.; Tize, Z.; Fogang Nde, P.J.; Nyangono Biyegue, C.F.; Bouelet Ntsama, I.S.; Dibong, S.D.; Nkongmeneck, B.A. Ethnobotany and pharmacognostic perspective of plant species used as traditional cosmetics and cosmeceuticals among the Gbaya ethnic group in Eastern Cameroon. *S. Afr. J. Bot.* **2017**, *112*, 29–39.
77. Zaid, A.N.; Jaradat, N.A.; Eid, A.M.; Al Zabadi, H.; Alkaiyat, A.; Darwish, S.A. Ethnopharmacological survey of home remedies used for treatment of hair and scalp and their methods of preparation in the West Bank-Palestine. *BMC Complement. Altern. Med.* **2017**, *17*, 1–15.
78. Manconi, M.; Manca, M.L.; Marongiu, F.; Caddeo, C.; Castangia, I.; Petretto, G.L.; Pintore, G.; Sarais, G.; D'Hallewin, G.; Zaru, M.; et al. Chemical characterization of *Citrus limon* var. *pompia* and incorporation in phospholipid vesicles for skin delivery. *Int. J. Pharm.* **2016**, *506*, 449–457.
79. Hu, J.; Li, X. Inhibitory effect of lemon essential oil on mushroom tyrosinase activity in vitro.

Mod. Food Sci. Technol. **2015**, *31*, 97–105.

80. Valgimigli, L.; Gabbanini, S.; Berli, E.; Lucchi, E.; Beltrami, C.; Bertarelli, Y.L. Lemon (*Citrus limon* Burm. f.) essential oil enhances the trans-epidermal release of lipid- (A, E) and water- (B₆, C) soluble vitamins from topical emulsions in reconstructed human epidermis. *Int. J. Cosmet. Sci.* **2012**, *34*, 347–356.
81. Tammaro, A.; Narcisi, A. Contact allergy to limonene from a home-made cosmetic. *Eur. J Inflammat.* **2012**, *10*, 243–245.
82. The International Fragrance Association. Available online: <https://ifrafragrance.org> (accessed on 10 October 2019).
83. Ramawat, K.G.; Mathur, M. Factors affecting the production of secondary metabolites. In *Biotechnology: Secondary Metabolites, Plants and Microbes*; Ramawat, K.G., Merillon, J.M., Eds.; Science Publ Inc., Jarsey: Plymouth, UK, 2007; pp. 59–102.
84. Goswami, K.; Sharma, R.; Singh, P.K.; Singh, G. Micropropagation of seedless lemon (*Citrus limon* L. cv. *Kaghzi Kalan*) and assessment of genetic fidelity of micropropagated plants using RAPD markers. *Physiol. Mol. Biol. Plants* **2013**, *19*, 137–145.
85. Murashige, T.; Skoog, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **1962**, *15*, 473–497.
86. Navarro-García, N.; Morte, A.; Pérez-Tornero, O. In vitro adventitious organogenesis and histological characterization from mature nodal explants of *Citrus limon*. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* **2016**, *52*, 161–173.
87. Lloyd, G.; McCown, B. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Comb. Proc. Int. Plant Propagators Soc.* **1982**, *30*, 421–427.
88. Holst, B.; Williamson, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current Opinion in Biotechnology*, **2008**, *19*, 73–82.
89. J. Zhao, J. Yang, Y. Xie, Improvement strategies for the oral bioavailability of poorly water-soluble flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmaceutics* **2019**.
90. Łukawski, M.; Datek, P., Borowik, T.; Forýs A.; Langner, M.; Witkiewicz, M.; Przybyło M. New oral liposomal vitamin C formulation: properties and bioavailability. *Journal of Liposome Research*, **2019** 1-8.
91. UNE-ISO 855. Aceite esencial del limón [*Citrus limon* (L.) Burm. F.], obtenido por expresión. *Asociación española de Normalización*.