

## COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* DIELS, *Schinus molle* Y *Tagetes elliptica* SMITH

Julio Reynaldo Ruiz Quiroz<sup>1</sup>\*, María Elena Salazar Salvatierra<sup>1</sup>

### RESUMEN

La composición química y el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* L. y *Tagetes elliptica* Smith) fueron determinados por cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM) y microdilución en placa respectivamente. En *Citrus paradisi*, se encontraron 21 componentes, siendo los principales el D-Limoneno (83,45%), octanal (8,68%) y  $\beta$ -mirceno (2,48%); en *Juglans neotropica* Diels se encontraron 36 componentes, siendo los principales el  $\alpha$ -pineno (39,88%), cariofileno (27,66%) y  $\beta$ -pineno (11,00%); en *Schinus molle* se encontraron 37 componentes, siendo los principales  $\alpha$ -felandreno (19,59%), canfeno (19,10%) y  $\alpha$ -pineno (16,56%); y en *Tagetes elliptica* Smith se encontraron 33 componentes, siendo los mayoritarios  $\beta$ -mirceno (63,49%), cis-lanaloól óxido (10,07%) y 2-tujeno (7,77%). Las concentraciones mínimas inhibitorias (CMIs) para los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* L. y *Tagetes elliptica* Smith fueron menores a 2,5  $\mu$ L/mL para *Staphylococcus aureus*, y para *Staphylococcus epidermidis* fueron menores de 5  $\mu$ L/mL, con excepción de *Juglans neotropica* Diels que fue > 40  $\mu$ L/mL; y todos los aceites fueron inactivos contra *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados encontrados corroboran el gran potencial antibacteriano de los aceites esenciales estudiados.

**Palabras clave:** antibacteriano, *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica*, *Schinus molle*, *Tagetes elliptica*, aceite esencial

## CHEMISTRY COMPOSITION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE ESSENTIAL OILS OF *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* Y *Tagetes elliptica* SMITH

### ABSTRACT

The chemical composition and the antibacterial effect of the essential oils of *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* L. and *Tagetes elliptica* Smith) were determined

<sup>1</sup> Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo". Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. Jr. Puno 1002. Jardín Botánico. Lima- Perú. \*jruiq@unmsm.edu.pe

for gas chromatography/Mass spectrometry (GC/MS) and plate microdilution respectively were studied. In *Citrus paradisi*, 21 components were found, the main ones being D-Limonene (83,45%), octanal (8,68%) and  $\beta$ -myrcene (2,48%); in *Juglans neotropica* Diels 36 components were found, the main ones being  $\alpha$ -pinene (39,88%), caryophyllene (27,66%) and  $\beta$ -pinene (11,00%); 37 components were found in *Schinus molle*, the main  $\alpha$ -phelandrene (19,59%), camphene (19,10%) and  $\alpha$ -pinene (16,56%); and in *Tagetes elliptica* Smith found 33 components, with the majority being  $\beta$ -myrcene (63,49%), cis-linalool oxide (10,07%) and 2-tujene (7,77%). The minimum inhibitory concentration (MIC) for the essential oils of *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* L. and *Tagetes elliptica* Smith were less than 2.5  $\mu$ L/mL for *Staphylococcus aureus*, and for *Staphylococcus epidermidis* were less than 5  $\mu$ L/mL, with the exception of *Juglans neotropica* Diels which was > 40  $\mu$ L/mL; and all the oils were inactive against *Pseudomonas aeruginosa*. The results found corroborate the great antibacterial potential of the essential oils studied.

**Key words:** antibacterial, *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica*, *Schinus molle*, *Tagetes elliptica*, essential oil

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas causan gran morbilidad y mortalidad por lo que se consideran un problema de salud pública, y aquellas que están asociadas a microorganismos resistentes a antimicrobianos pueden causar 700 000 muertes al año debido principalmente a la falla terapéutica. Se dice que para el año 2050 si no se toman medidas adecuadas para controlar la multidrogorresistencia podrían ocasionar 10 millones de fallecimientos<sup>1,2</sup>.

El año 2017, la OMS publicó una lista de patógenos prioritarios para la investigación y desarrollo de nuevos antibióticos. En esta lista figuran entre otros en prioridad crítica *Pseudomonas aeruginosa* (resistente a carbapenémicos), y en prioridad elevada *Staphylococcus aureus* (resistente a meticilina y resistente a vancomicina)<sup>3</sup>. Ambos patógenos también pertenecen al grupo conocido como ESKAPE, junto con *Enterococcus faecium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, y *Enterobacter*, y representan una amenaza mundial para la salud humana<sup>4</sup>.

Los productos naturales, como las plantas y sus derivados, son una alternativa frente al poco avance en el desarrollo de nuevos antimicrobianos. La OMS, el año 2019 identificó sólo 6 antibióticos innovadores, de un grupo de 32, que estaban en fase de desarrollo clínico<sup>5</sup>. Ante este panorama, los aceites esenciales (AEs) son una alternativa como fuente de antimicrobianos. Los AEs son una mezcla compleja de compuestos orgánicos volátiles (compuestos fenólicos, terpenoides, aldehídos, éteres, cetonas, etc.) que se sintetizan como parte del metabolismo secundario de las plantas<sup>6</sup>. Desde la antigüedad, los AEs se han usado para diferentes propósitos, en la medicina, agricultura, cosmetología, etc.<sup>7</sup>.

El Perú es un país megadiverso, con una costumbre ancestral del uso de plantas medicinales. El género *Citrus* es conocido por ser una importante fuente de AEs, considerados una rica fuente de compuestos químicos de interés para la industria de alimentos y perfumes<sup>8</sup>. El género *Juglans* tiene 21 especies, entre las que se encuentra *Juglans neotropica* Diels<sup>9</sup>, cuyas hojas en la medicina popular se usan para el tratamiento de dermatitis, insuficiencia venosa y úlceras<sup>10</sup>. *Schinus molle* L. se ha utilizado en medicina popular como antibacteriano, antiviral, antiséptico tópico, antifúngico, antioxidante, antiinflamatorio, y analgésico<sup>11</sup>. Las especies del género *Tagetes* se usan en el Perú en gastronomía, pero también se han demostrado sus propiedades antimicrobianas<sup>12,13</sup>. En este sentido, el propósito del estudio fue evaluar la composición química y la actividad antibacteriana de los AEs de la cáscara de *Citrus paradisi* (toronja), y de las hojas de *Juglans neotropica* Diels (nogal), *Schinus molle* (molle) y *Tagetes elliptica* Smith (Chincho), frente a *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, y *Staphylococcus epidermidis*.

## PARTE EXPERIMENTAL

El estudio de investigación fue de tipo analítico, cuasi-experimental y prospectivo. Las plantas fueron recolectadas entre noviembre y febrero del 2018, en los departamentos de Amazonas (nogal), Lima (molle y chincho), y Piura (toronja). El material vegetal utilizado fueron las hojas de *Juglans neotropica* Diels (nogal), *Schinus molle* L. (molle) y *Tagetes elliptica* Smith (chincho) y cáscara *Citrus paradisi* (toronja).

### Obtención de aceites esenciales

La extracción de los AEs de las muestras se realizó por el método de hidrodestilación, a partir de 6,6 Kg de cáscara de *Citrus paradisi*, 4,85 Kg de hojas de *Juglans neotropica* Diels, 4,12 Kg de hojas de *Schinus molle* y 4,87 Kg de *Tagetes elliptica* Smith. Una vez obtenidos los aceites, estos fueron desecados con sulfato de sodio anhidro y posteriormente guardado en un frasco de vidrio ambar en refrigeración<sup>14</sup>.

### Análisis preliminar y fisicoquímico

Se realizó la determinación de las características organolépticas (color, olor, sabor y aspecto) y la densidad<sup>15</sup>.

### Cromatografía de gases/ espectrometría de masas (CG/EM)

Los análisis de los AEs fueron realizados mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG/EM) usando un cromatografo de gases Shimadzu GC-2010 plus, equipado con automuestreador Shimadzu AOC-600 y un detector de espectrometría de masas Shimadzu GCMS-QP210 Ultra, provisto de una columna Restek RTX-5MS, 30 m x 0,25 mm ID x 0,25 µm df. Serial: 1346249. Las condiciones operativas fueron las siguientes: temperatura inicial 50°C, temperatura final 110°C, temperatura de inyección 220°C, volumen de inyección 200 µL, el gas portador fue helio con una tasa de flujo total de 18,4 mL/min. El tiempo de corrida fue de 52, 70, 65 y 60 minutos para los AEs de toronja, nogal, molle y chincho respectivamente. Las condiciones de espectrometría de masas fueron las siguientes:

la energía de ionización fue de 70 eV y la temperatura de detección fue de 200 °C. Los componentes fueron identificados por análisis comparativo de los espectros de masa frente a la base de datos NIST14s.lib, y el contenido relativo de los mismos fueron estimados por comparación de su área con las áreas totales<sup>16</sup>.

### **Microorganismos y condiciones de crecimiento**

Las cepas utilizadas fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, y fueron proporcionadas por el Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

Las cepas fueron reactivadas 24 h antes de su uso, sembradas en agar tripticasa soya (Merck) a 35°C.

### **Evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)**

La determinación de la CMI se realizó por el método de microdilución en placa, siguiendo el protocolo CLSI M07-A10, con modificaciones<sup>17,18</sup>. El experimento se realizó en microplacas de poliestireno (Brand) estériles de 96 pocillos. Las muestras se prepararon en el rango de concentraciones de 0,078 – 40 µL/mL, usando como diluyente el caldo Mueller Hinton (CMH) (Merck) y tween 80. El CMH sólo se usó como control de esterilidad y el CMH más bacteria como control positivo, y como antimicrobiano de referencia se usó ciprofloxacino a concentraciones de 0,125-64 µg/mL. Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Luego las microplacas se llevaron a incubación a 37°C por 18-24 h. Para la determinación del CMI, se consideró la mínima dilución en la que no se produjo el cambio de color de púrpura a rosado o incoloro. El promedio de tres valores fue calculado.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis preliminar y fisicoquímico**

Resultados del análisis organoléptico y fisicoquímico preliminar se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Análisis organoléptico y densidad de las plantas del estudio.

Características	Aceite esencial			
	<i>Citrus paradisi</i> (C)	<i>Juglans neotropica</i> Diels (H)	<i>Schinus molle</i> L. (H)	<i>Tagetes elliptica</i> Smith (H)
Rendimiento (%V/P)	0,15	0,00008	1,1	0,041
Olor	Aroma agradable	Sui generis	Picante	Sui generis
Sabor	Picante fresco	N.D.	Amargo	Picante astringente
Color	Ligeramente amarillento	Amarillo	Ambar	Anaranjado
Aspecto	Líquido fluido y transparente	Viscoso	viscoso	Líquido translúcido y viscoso
Densidad (20°C)	0,852	N.D.	0,8720	0,7800

N.D.: No determinado, C: cáscara, H: hojas

El rendimiento del AE de *Citrus paradisi* de 0,15% (V/P) es similar al reportado por Villa<sup>19</sup>, pero menor al reportado por Miya *et al.*, que oscilan entre 0,34-0,57 %<sup>20</sup>. El rendimiento del aceite esencial de hojas de *Schinus molle* de 1,1%, fue mayor que los reportados en otros estudios, que van desde 0,1154 - 0,214 %<sup>21,22</sup>. El rendimiento del aceite esencial de hojas de *Tagetes elliptica* Smith fue de 0,041%, menor al obtenido por López<sup>23</sup>. Las diferencias en el rendimiento se deben probablemente a las distintas condiciones de extracción de los AEs, además de las diferentes condiciones edafológicas de las plantas.

### Composición química

El análisis de CG-MS del AE de cáscara de *Citrus paradisi*, reveló 21 compuestos volátiles (tabla 2), de los que 3 representan 94,61 % (D-Limoneno con 83,45 %, Octanal con 8,68% y beta-mirceno con 2,48 %). Los resultados son similares a otros estudios respecto a la concentración de limoneno (20,24,25), pero difieren en concentración de otros compuesto como alfa-pineno, beta-pineno y linalol<sup>24,25</sup>.

**Tabla 2.** Composición química del aceite esencial de cáscara de *Citrus paradisi*.

Número	Componente	TR <sup>a</sup> (min)	% en la muestra <sup>b</sup>
1	5-clorovalérico ácido	4,375	0,01
2	2-pentanona, 4-methyl-, oxima	4,608	0,28
3	Butano, 1-fluoro	4,799	0,09
4	Heptanal	9,716	0,23
5	$\alpha$ -pineno	12,081	1,41
6	$\beta$ -felandreno	16,271	2,21
7	$\beta$ -mirceno	19,056	1,15
8	$\beta$ -mirceno	19,085	1,33
9	Octanal	21,136	5,33
10	Octanal	21,217	3,35
11	D-limoneno	25,400	21,21
12	D-limoneno	25,587	8,89
13	Ciclohexano, 1-metil-4-(1-metiletetil)-1-, (S)-	25,960	23,32
14	Ciclohexano, 3-metil-6-(1-metiletetil)-1-, (3R-trans)-	26,022	3,65
15	D-limoneno	26,134	7,93
16	D-limoneno	26,210	5,39
17	D-limoneno	26,373	14,06
18	1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	30,074	0,16
19	$\gamma$ -terpineno	31,495	0,09
20	trans-Linalool oxido (furanoide)	33,949	0,05
21	1-octanol	34,780	0,25
22	Linalool	37,968	0,27
23	Nonanal	38,460	0,10
24	Citronelal	42,866	0,04
25	Terpinen-4-ol	44,332	0,03
26	$\alpha$ -terpineol	45,413	0,03
27	Decanal	46,685	0,06
28	2,6-octadienal,3,7-dimetil-,(Z)-	48,814	0,03
29	Citral	50,583	0,03
			100,00

Componentes listados en orden de elución de una columna

<sup>a</sup> TR, Tiempo de retención (min) calculados en la columna<sup>b</sup> Porcentaje del área relativa (área de pico relativa al área del pico total en el cromatograma)

**Tabla 3.** Composición química del aceite esencial de hojas de *Juglans neotropica* Diels.

Número	Componente	TR <sup>a</sup> (min)	% en la muestra <sup>b</sup>
1	Hexano, 2,4-dimetil-	5,042	0,18
2	Biciclo[3.1.0]hex-2-eno,2-metil-5-(1-metiletil)-	11,582	0,34
3	$\alpha$ -pineno	12,145	39,88
4	Biciclo[3.1.1]heptano, 6,6-dimetil-2-metileno-,(1S)-	16,425	11,00
5	$\beta$ -mirceno	18,993	5,09
6	1,3-ciclohexadieno, 1-metil-4-(1-metiletil)-	22,474	0,37
7	<i>o</i> -cimeno	23,961	0,44
8	D-limoneno	24,643	3,47
9	1,3,6-Octatrieno, 3,7-dimetil-, (Z)-	29,844	0,90
10	$\gamma$ -terpineno	31,363	1,01
11	Ciclohexano, 1-metil-4-(1-metiletilideno)-	35,954	0,22
12	Biciclo[3.1.1]hep-3-en-2-ona, 4,6,6,-trimetil	37,660	0,20
13	Nonanal	38,448	0,20
14	Geranil nitrilo	39,680	3,28
15	6-metil-3,5-heptadieno-2-ona	45,660	0,10
16	Benceno, 2-metoxi-4-metil-1-(1-metietil)-	48,461	0,10
17	Benceno, 1-metoxi-4-metil-2-(1-metietil)-	48,982	0,22
18	Linalil acetato	49,781	0,28
19	Trisulfuro, di-2-propenil	51,913	0,13
20	Timol	52,050	0,04
21	3,9-dodecadiina	53,105	0,03
22	$\alpha$ -cubebeno	54,544	0,28
23	$\alpha$ -cubebeno	55,802	1,26
24	Ciclohexano, 1-etetil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-,[1S-(1. $\alpha$ .,2. $\beta$ .,4. $\beta$ .)]-	56,617	0,03
25	Biciclo[7.2.0]undec-4-eno, 4,11,11-trimetil-8-metileno	57,262	0,04
26	Cariofileno	57,933	27,66
27	$\alpha$ -guaieno	58,733	0,75
28	$\alpha$ -cubebeno	59,236	0,15
29	Humuleno	59,366	1,40
30	Naftaleno, 1,2,4a,5,8,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-, (1. $\alpha$ .,4a. $\beta$ .,8a. $\alpha$ .)-(+/-)-	60,278	0,03
31	Biciclo[4.4.0]dec-1-eno,2-isopropil-5-metil-9-metil	61,036	0,03
32	Azuleno, 1,2,3,5,7,8,8a-octahidro-1,4-dimetil-7-(1-metiletenil)-, [1S-(1. $\alpha$ .,7. $\alpha$ .,8a. $\beta$ .)]-	61,656	0,29
33	$\alpha$ -farneseno	61,756	0,16
34	Naftaleno, 1,2,3,5,6,8a-hexahidro-4,7,dimetil-1-(1-metiletil)-, (1S-cis)-	62,383	0,33
35	Naftaleno, 1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6,dimetil-4-(1-metiletil)-	62,740	0,06
36	Oxido de cariofileno	64,900	0,04
			100,00

Componentes listados en orden de elución de una columna

<sup>a</sup> TR, Tiempo de retención (min) calculados en la columna<sup>b</sup> Porcentaje del área relativa (área de pico relativa al área del pico total en el cromatograma)

**Tabla 4.** Composición química del aceite esencial de hojas de *Schinus molle*.

Número	Componente	TR <sup>a</sup> (min)	% en la muestra <sup>b</sup>
1	Tolueno	4,246	0,12
2	Hexano,2,4-dimetil-	4,986	0,08
3	1-heptano,2,6-dimetil-	8,336	0,05
4	Triciclo[2.2.1.0(2,6)]heptano,1,7,7-trimetil-	11,110	4,34
5	Biciclo[3.1.0]hex-2-eno,2-metil-5-(1-metiletil)-	11,634	0,18
6	$\alpha$ -pineno	12,338	16,56
7	Camfeno	13,716	19,10
8	Beta-pineno	16,640	8,85
9	$\beta$ -mirceno	19,066	1,53
10	$\alpha$ -felandreno	21,043	19,59
11	o-cimeno	24,297	3,11
12	3-(4-metilbenzoil)-2-thioxo-4-thiazolil 4-metilbenzoato	24,374	0,92
13	o-cimeno	24,525	1,85
14	1-pentanona,1-(4-metilfenil)-	24,598	0,92
15	o-cimeno	24,619	1,53
16	$\beta$ -felandreno	25,415	15,16
17	$\gamma$ -terpineno	25,459	1,53
18	D-limoneno	25,547	4,04
19	1,3,6-octatrieno,3,7-dimetil-,(Z)-	29,932	0,19
20	Ciclohexano, 1-metil-4-(1-metiletilideno)-	35,962	0,05
21	Terpinen-4-ol	44,329	0,01
22	2-ciclohexen-1-ona, 4-(1-metiletil)-	44,954	0,01
23	Biciclo[3.1.0]hexan-3-ol, 4-metileno-1-(metiletil)-, (1. $\alpha$ .,3. $\alpha$ .,5. $\alpha$ .)-	46,141	0,01
24	Bornil acetato	51,305	0,02
25	Ciclohexano, 1-etetil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-,[1S-(1. $\alpha$ .,2. $\beta$ .,4. $\beta$ .)]-	56,615	0,01
26	1H-Cicloprop[e]azuleno, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahidro-1,1,4,7-tetrametil-	57,394	0,02
27	Cariofileno	57,823	0,04
28	Humuleno	59,360	0,01
29	$\gamma$ -muuroloeno	60,400	0,00
30	Germacreno D	60,578	0,02
31	Ciclohexano, 1-etetil-1-metil-2-(metiletenil)-4-(1-metiletilideno)-	61,262	0,07
32	$\alpha$ -muuroloeno	61,438	0,01
33	Naftaleno, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahidro-7-metil-4-metileno-1-(1-metiletil)-	61,995	0,01
34	Naftaleno, 1,2,4a,5,8,8a-hexahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-	62,395	0,04
35	Ciclohexanemetanol, 4-etetil-, $\alpha$ ., $\alpha$ .,4-trimetil-3-(1-metiletenil)-	63,459	0,01
36	(2E,4S,7E)-4-Isopropil-1,7-dimetilciclodecano-2,7-dienol	64,566	0,01
37	1H-Cicloprop[e]azuleno-7-ol, decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-	64,695	0,01
			100,00

Componentes listados en orden de elución de una columna

<sup>a</sup> TR, Tiempo de retención (min) calculados en la columna<sup>b</sup> Porcentaje del área realtiva (área de pico relativa al área del pico total en el cromatograma)

**Tabla 5.** Composición química del aceite esencial de hojas de *Tagetes elliptica* Smith.

Número	Componente	TR <sup>a</sup> (min)	% en la muestra <sup>b</sup>
1	Furan, 2-etil	3,089	0,02
2	Metil isobutil cetona	3,673	0,07
3	Isopropilideno-	5,032	0,02
4	Ácido butanoico, 2-metil, etil ester	6,878	0,14
5	Ácido hexánico, metil ester	11,589	0,17
6	$\alpha$ -pineno	12,069	0,23
7	2(10)-Pinene	16,405	1,44
8	$\beta$ -mirceno	19,907	54,90
9	2-Tujeno	19,992	7,77
10	$\beta$ -mirceno	20,072	8,59
11	cis,cis-Linoleico ácido	22,523	0,07
12	2,8-decadieno	23,776	0,08
13	D-limoneno	24,838	3,17
14	Trans-,beta.-Ocimeno	27,924	3,73
15	beta.-cis-Ocimeno	29,934	0,03
16	Ácido pentanoico, 2-propenil ester	31,204	3,81
17	Terpinoleno	35,965	0,02
18	2,2-dimetil-3-heptanona	36,175	0,59
19	Cis-Linalool oxido	37,463	10,07
20	Linalool	38,010	0,04
21	Amil isovalerato	38,541	0,04
22	2,6-Dimetil-8-(tetrahidropirano-2-iloxi)-octa-2,6-dien-1-ol	39,068	0,03
23	Alilciclohexano	39,539	0,05
24	2-octen-4-ol	39,880	3,87
25	Ácido octanoico, metil ester	40,700	0,07
26	trans-Tagetona	42,204	0,46
27	$\beta$ -Linalool	42,493	0,22
28	1,2:5,6-Diepoxiciclooctano	43,030	0,01
29	8-Hidroxilinalool	43,286	0,03
30	1,1'-Bicicloheptil	44,223	0,05
31	p-Mentano-8-ol	45,476	0,05
32	Decanal	46,683	0,04
33	Verbenona	48,224	0,08
34	Cis-Linalool oxido	50,600	0,01
35	Cariofileno	57,826	0,04
			100,00

Componentes listados en orden de elución de una columna

<sup>a</sup> TR, Tiempo de retención (min) calculados en la columna<sup>b</sup> Porcentaje del área realtiva (área de pico relativa al área del pico total en el cromatograma)

Este es el primer reporte de la composición química del AE de hojas de *Juglans neotropica* Diels, en el análisis de CG-MS se observaron 36 compuestos volátiles (tabla 3), siendo los más abundantes alfa-pineno (39,88 %), cariofileno (27,66 %) y beta-pineno (11,0 %), beta-mirceno (5,09 %), D-limoneno (3,47 %), geranil-nitrilo (3,28 %), alfa-cubeneno (1,69 %), humoleno (1,40 %) y gamma-terpineno (1,01 %). Los compuestos beta-pineno, cariofileno y D-limoneno también son mayoritarios en el aceite esencial de hojas de *Juglans regia* L.<sup>26-28</sup>.

El análisis de la composición química del AE de las hojas de *Schinus molle* reveló 37 compuestos volátiles (tabla 4). Los principales compuestos encontrados fueron: alfa-felandreno (19,59%), canfeno (19,10%), alfa-pineno (16,56%), beta pineno (8,85%), o-cimeno (6,53%), tricicleno (4,24%), D-limoneno (4,04%), y gamma-terpineno (1,53%). Los resultados son similares a los reportados en otros estudios<sup>11,29-31</sup>, con algunas diferencias como la presencia de elemol y beta-mirceno<sup>11,31</sup>.

El análisis de la composición química del AE de las hojas de *Tagetes elliptica* Smith reveló 35 compuestos (tabla 5), con predominancia de beta-mirceno (63,49%), cis-linalool óxido (10,07%), 2-tujeno (7,77%), 2-octen-4-ol (3,87%), ácido pentanoico, 2 propenil ester (3,81%), trans-beta-ocimeno (3,73%), D-limoneno (3,17%), beta-pineno (1,44%), y trans-tagenona (0,46%). El resultado es similar en algunos componentes (beta-mirceno, pineno) al reportado por López<sup>23</sup>. Limoneno, beta-pineno, beta-mirceno, y tagenona se encuentran en AEs de hojas del género *Tagetes*<sup>12,32</sup>.

### Actividad antibacteriana

Los resultados de la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) por el método de microdilución colorimétrico de los AEs de las plantas en estudio contra las siguientes cepas *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 se observan en la tabla 6.

El AE de la cáscara de *Citrus paradisi* no presentó actividad frente a *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (CMIs > 40 µL/mL), pero sí contra *Staphylococcus epidermidis* con una CMI de 5 µL/mL. Por otro lado Denkova *et al.*<sup>25</sup> reportaron una CMI de 600 ppm del aceite contra *S. aureus*, y Mantilla<sup>33</sup> demostró actividad con el aceite al 25% frente a la misma cepa. Ou MC *et al.*, halló una débil actividad (20 mg/mL) del aceite de *C. paradisi* frente a *Pseudomonas aeruginosa*<sup>34</sup>. La actividad presentada por el aceite esencial estudiado se atribuye probablemente a la presencia de los hidrocarburos monoterpenos o sesquiterpenos y sus derivados oxigenados, entre los cuales se tiene a D-limoneno, linalol o citral<sup>25</sup>. Otras actividades reportadas para el aceite esencial de *C. paradisi* son contra *Streptococcus mutans*<sup>19</sup> y contra *Candida albicans*<sup>24</sup>.

**Tabla 6.** Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los aceites esenciales.

Aceite esencial	Concentración Mínima Inhibitoria ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ )		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Citrus paradisi</i>	> 40	5	> 40
<i>Juglans neotropica</i> Diels	> 40	> 40	> 40
<i>Schinus molle</i>	20	0,3125	> 40
<i>Tagetes elliptica</i> Smith	5	0,3125	> 40

El aceite esencial de las hojas de *Juglans neotropica* Diels, no mostró ninguna actividad frente a las cepas estudiadas, con CMI > 40  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . No hay reportes en la literatura científica sobre la actividad antibacteriana del aceite mencionado, sin embargo si está reportado la actividad de la infusión de las hojas contra *Candida albicans*<sup>35</sup>. Por otro lado la literatura reporta actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (31,25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), *Staphylococcus epidermidis* (15,62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y *Staphylococcus aureus* (15,62  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) del aceite esencial de las hojas de *Juglans regia*<sup>28</sup>.

El aceite esencial de las hojas de *Schinus molle* presentó muy buena actividad frente a *Staphylococcus epidermidis* (CMI= 0,3125  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), actividad moderada frente a *Staphylococcus aureus* (CMI= 20  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ), y no tuvo actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (CMI > 40  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Los resultados encontrados concuerdan con los reportados por otros autores<sup>11,36</sup>, (11,36), con la diferencia de que reportan actividad frente a *Pseudomonas aeruginosa*, pero a una concentración mayor a la trabajada en el presente trabajo de investigación<sup>36</sup>.

El análisis de la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Tagetes elliptica* Smith demostró una excelente actividad frente a *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, con CMI de 0,3125  $\mu\text{L}/\text{mL}$  y 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$  respectivamente. Por otro lado el aceite no mostró actividad contra *Pseudomonas aeruginosa* (CMI > 40  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ). Un estudio empleando el mismo aceite, encontró actividad significativa contra para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*<sup>13</sup>.

## CONCLUSIONES

Se logró identificar los principales compuestos de los aceites esenciales de la cáscara de *Citrus paradisi*, y hojas de *Juglans neotropica* Diels, *Schinus molle* y *Tagetes elliptica* Smith. Los componentes más abundantes fueron D-limoneno (83,45%), alfa-pineno (39,88), alfa-felandreno (19,59%), y beta-mirceno (63,49%) para cada uno de los aceites respectivamente. Respecto a la actividad antibacteriana, los aceites esenciales de *Schinus molle* y *Tagetes elliptica* Smith demostraron actividad contra *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, de otro lado el aceite esencial de *Citrus paradisi* sólo tuvo actividad frente a *Staphylococcus epidermidis*. El aceite esencial de *Juglans neotropica* Diels no mostró

actividad frente a ninguna de las bacterias estudiadas, y además ninguno de los aceites esenciales estudiados presentaron actividad contra *Pseudomonas aeruginosa*.

## AGRADECIMIENTOS

Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el financiamiento de tesis de Posgrado. Código: A17040394b

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Christaki E, Marcou M, Tofarides A. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. *J Mol Evol.* 2020;88(1):26-40.
2. O'Neill J. Antimicrobial resistance : tackling a crisis for the health and wealth of nations / the Review on Antimicrobial Resistance [Internet]. Wellcome Collection. 2014 [citado 15 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://wellcomecollection.org/works/rdpck35v/items>
3. OMS. La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos [Internet]. 2017 [citado 10 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
4. De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 17 de junio de 2020;33(3):e00181-19. doi: 10.1128/CMR.00181-19.
5. OMS. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. 2020 [citado 28 de noviembre de 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
6. Wani AR, Yadav K, Khurshid A, Rather MA. An updated and comprehensive review of the antiviral potential of essential oils and their chemical constituents with special focus on their mechanism of action against various influenza and coronaviruses. *Microb Pathog.* 2021;152:104620. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104620.
7. Wińska K, Mączka W, Łyczko J, Grabarczyk M, Czubaszek A, Szumny A. Essential Oils as Antimicrobial Agents-Myth or Real Alternative? *Mol Basel Switz.* 2019;24(11):2130. doi: 10.3390/molecules24112130.
8. González-Mas MC, Rambla JL, López-Gresa MP, Blázquez MA, Granell A. Volatile Compounds in *Citrus* Essential Oils: A Comprehensive Review. *Front Plant Sci.* 2019;10:12. doi: 10.3389/fpls.2019.00012.
9. Ramírez F, Kallarackal J. The phenology of the endangered Nogal (*Juglans neotropica* Diels) in Bogota and its conservation implications in the urban forest. *Urban Ecosyst.* 2021;24(6):1327-1342.
10. Huachaca L. Actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "nogal". Ayacucho 2017 [Tesis]. Ayacucho: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga; 2017.

11. Martins MDR, Arantes S, Candeias F, Tinoco MT, Cruz-Morais J. Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. *J Ethnopharmacol.* 2014;151(1):485-492.
12. Salehi B, Valussi M, Morais-Braga MFB, Carneiro JNP, Leal ALAB, Coutinho HDM, et al. *Tagetes* spp. Essential Oils and Other Extracts: Chemical Characterization and Biological Activity. *Mol Basel Switz.* 2018;23(11): 2847. doi: 10.3390/molecules23112847.
13. Segovia I, Suárez L, Castro A, Suárez S, Ruiz J. Composición química del aceite esencial de *Tagetes elliptica* Smith “chincho” y actividades antioxidante, antibacteriana y antifúngica. *Cienc Investig.* 2010;13(2):81-86.
14. Cerpa Chávez MG. Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización [Tesis doctoral]. Valladolid: Universidad de Valladolid; 2007.
15. AOAC. Association of Official Analytical Chemist. Official methods of Analysis. 16th ed. Washington: AOAC International; 2000. 1319 p.
16. Gurbuz B, Bagdat RB, Uyanik M, Rezaeieh KAP. Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) cultivation studies under Ankara ecological conditions. *Ind Crops Prod.* 2016;88:12-16.
17. Ruiz J, Roque M, Salazar ME, Gamarra G, Arias G, Whu D, et al. Actividad antiestafilocócica y antibiopelícula de los extractos de *Juglans neotropica* Diels, *Piper lineatum* Ruiz & Pav. y *Terminalia catappa* L. *Cienc Investig.* 16(1):32-37.
18. Liu M, Seidel V, Katerere DR, Gray AI. Colorimetric broth microdilution method for the antifungal screening of plant extracts against yeasts. *Methods.* 2007;42(4):325-329.
19. Villa Gonzales GF. Composición química del aceite esencial de *Citrus paradisi* “Toronja”, actividad antioxidante y determinación de la actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017.
20. Miya G, Nyalambisa M, Oyedeji O, Gondwe M, Oyedeji A. Chemical Profiling, Toxicity and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils from Three Grapefruit Cultivars from KwaZulu-Natal in South Africa. *Mol Basel Switz.* 2021;26(11):3387. doi: 10.3390/molecules26113387.
21. López de la Cruz RP, Caso Orihuela NV. Rendimiento y composición química de aceites esenciales de *Eucalyptus archeri* y *Schinus molle* - Valle del Mantaro [Tesis de título]. Huancayo: Universidad Nacional del Centro; 2015.
22. Palacios A, Castillo W. Modelamiento de extracción del aceite esencial de *Aloysia citriodora* y *Schinus molle*. *Ing Cienc Tecnol e Innov.* 2015;2(2):14-24.
23. López Aguilar EB. Estudio de aceites esenciales en la especie *Tagetes elliptica* Smith (Chinche) [Tesis de título]. Lima: Universidad Nacional de Ingeniería; 2010.
24. Silva RA da, Antonietti FMPM, Röder DVD de B, Pedroso RDS. Essential Oils of *Melaleuca*, *Citrus*, *Cupressus*, and *Litsea* for the Management of Infections Caused by *Candida* Species: A Systematic Review. *Pharmaceutics.* 2021;13(10):1700. doi: 10.3390/pharmaceutics13101700.
25. Denkova-Kostova R, Teneva D, Tomova T, Goranov B, Denkova Z, Shopska V, et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils from tangerine (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.), lemon (*Citrus lemon*

- L.) and cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). *Z Naturforschung C J Biosci.* 2021;76(5-6):175-185.
26. Panth N, Paudel KR, Karki R. Phytochemical profile and biological activity of *Juglans regia*. *J Integr Med.* 2016;14(5):359-373.
  27. Pereira JA, Oliveira I, Sousa A, Valentão P, Andrade PB, Ferreira ICFR, et al. Walnut (*Juglans regia* L.) leaves: Phenolic compounds, antibacterial activity and antioxidant potential of different cultivars. *Food Chem Toxicol.* 2007;45(11):2287-2295.
  28. Rather MA, Dar BA, Dar MY, Wani BA, Shah WA, Bhat BA, et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of *Juglans regia* L. and its constituents. *Phytomedicine Int J Phytother Phytopharm.* 2012;19(13):1185-1190.
  29. St-Gelais A, Mathieu M, Lévassieur V, Ovando JF, Escamilla R, Marceau H. Preisocalamendiol, shyobunol and related oxygenated sesquiterpenes from Bolivian *Schinus molle* Essential Oil. *Nat Prod Commun.* 2016;11(4):547-550.
  30. Elshafie HS, Ghanney N, Mang SM, Ferchichi A, Camele I. An In Vitro Attempt for Controlling Severe Phytopathogens and Human Pathogens Using Essential Oils from Mediterranean Plants of Genus *Schinus*. *J Med Food.* 2016;19(3):266-273.
  31. Simsek M, Eke B, Demir H. Characterization of carboxymethyl cellulose-based antimicrobial films incorporated with plant essential oils. *Int J Biol Macromol.* 2020;163:2172-2179.
  32. Ccoñas Antezana W. Extracción y caracterización de aceite esencial de chikchimpanay (*Tagetes terniflora* H.B.K.). [Tesis de título]. Huancavelica: Universidad Nacional de Huancavelica; 2012.
  33. Mantilla Rodríguez CE. Determinación del efecto antibacteriano del aceite esencial del fruto *Citrus paradisi* (“tangelo”) frente a *Staphylococcus aureus in vitro* [Tesis de grado]. Huacho: Universidad Alas Peruanas; 2018.
  34. Ou M-C, Liu Y-H, Sun Y-W, Chan C-F. The Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Cold-Pressed and Distilled Essential Oils of *Citrus paradisi* and *Citrus grandis* (L.) Osbeck. *Evid-Based Complement Altern Med ECAM.* 2015;2015:804091. doi: 10.1155/2015/804091.
  35. Bardales Chuquilin AMT, Ureta Lumbe YMS. Actividad antifúngica con infusión de *Juglans neotropica* Diels (nogal) en colonias de *Candida albicans* (ATCC 10231) [Tesis de título]. Cajamarca: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrel; 2017.
  36. De Mendonça Rocha PM, Rodilla JM, Díez D, Elder H, Guala MS, Silva LA, et al. Synergistic antibacterial activity of the essential oil of aguaribay (*Schinus molle* L.). *Molecules.* 2012;17(10):12023-12036.