

## ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIMICROBIANA DE ACEITES ESENCIALES DE CÍTRICOS DE AMÉRICA NORTE Y SUR

M. Raspo\*<sup>(1)</sup>, M. B Vignola<sup>(1)</sup>, A.E Andreatta<sup>(1)</sup> y H.R Juliani<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Facultad Regional San Francisco – UTN – CONICET

Av. de la Universidad 501, San Francisco, Córdoba, Argentina.

<sup>(2)</sup> Department of Plant Biology, School of Environmental and Biological Sciences (SEBS) Rutgers University  
59 Dudley Road, New Brunswick 08901, NJ, USA

\*E-mail: mraspo@sanfrancisco.utn.edu.ar

### INTRODUCCIÓN

Las especies de cítricos tienen una contribución importante en el mercado mundial de frutas y verduras con una producción promedio de 10 millones de toneladas y 3 mil millones de dólares entre 2007 y 2017. Argentina y Estados Unidos tienen vastas plantaciones de cítricos en sus territorios debido a los suelos fértiles y al clima apropiado. Los aceites esenciales (AE) se consideran muy valiosos, ya que tienen diversos usos no alimenticios, incluidos cosméticos, fragancias y preparaciones farmacéuticas (Finch et al. 2014). Los aceites esenciales de cítricos (AEC) tienen una fracción volátil, generalmente mayor al 90%, y una fracción no volátil. De las especias cítricas, los monoterpenos y sesquiterpenos representan principalmente la fracción volátil, siendo el limoneno el compuesto principal. Muchos autores han estudiado las aplicaciones de los AEC y sus efectos, por ejemplo, Gutiérrez et al. (2014) han demostrado el uso del limoneno como precursor de polímeros a través de reacciones catalíticas. Además, diferentes estudios han demostrado que los AEC presentan actividad biológica contra una amplia gama de especies bacterianas. Por ejemplo, Randazzo et al. (2016) han demostrado que los monoterpenos oxigenados de los AEC son eficaces para inhibir la *Listeria monocytogenes*. Además, la actividad microbiológica de ellos se probó contra *Salmonella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* (Luciardi et al. 2016). El presente trabajo tiene como objetivo encontrar diferencias y similitudes entre diferentes especies de aceites esenciales de cítricos (pomelo, limón, mandarina y naranja) de diferentes orígenes (Argentina, Estados Unidos), en términos de su composición química, actividad antioxidante y actividad antimicrobiana para encontrar nuevos usos y aplicaciones y así contribuir a los usos "verdes" de los residuos industriales.

### MÉTODOS

Los cítricos pomelo (*Citrus paridisi*), limón (*Citrus lemon*), mandarina (*Citrus reticulata*) y naranja (*Citrus*

*sinensis*) se compraron en los mercados locales de Argentina (AR) y Estados Unidos (US). Además, los aceites esenciales puros y comerciales (CM) se compraron a Plant Essential Oils (California, EE. UU.). Estos aceites esenciales comerciales se usaron sin ninguna purificación. El perfil químico de los CEO se analizó utilizando un cromatógrafo de gases (Agilent 6890, EE. UU.) acoplado a un detector de espectrometría de masas (MSD) y un detector de ionización de llama (GC / MS-FID).

### Detección de actividad antioxidante y antimicrobiana en aceites esenciales de cítricos

Se hicieron determinaciones de ABTS, FRAP, DPPH y CUPRAC para determinar capacidad antioxidante. Todos los AEC fueron examinados para medir su actividad antibacteriana mediante el método de difusión en disco (Clinical and Laboratory Standards Institute 2013). Este examen se llevó a cabo utilizando: *Escherichia coli* ATCC 8739 (Gram-negativa) como una bacteria patógena potencial; *Leuconostoc mesenteroides* MS1 (Gram-positivo) como una bacteria transmitida por los alimentos, que se aisló de salchichas industriales (Serra et al. 2018); y *Lactobacillus plantarum* ES147 y ATCC 8014 (Gram-positivas) como bacteria beneficiosas. La concentración mínima inhibidora (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) de los AEC que presentaron mayores halos de inhibición se determinaron *E. coli*.

### Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software InfoStat (Córdoba, Argentina). El análisis de varianza (ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ) y la prueba DGC se realizaron para determinar diferencias significativas entre las medias en los ensayos de antioxidantes. La variabilidad entre los diferentes AEC y los resultados de los ensayos de antioxidantes y el análisis antimicrobiano se realizó con un análisis multivariado en los componentes principales.

## RESULTADOS

Se detectaron un total de 31 compuestos para los 4 AEC de Argentina, Estados Unidos y Comercial. El número de compuestos detectados para cada aceite esencial varió entre cinco para el pomelo y veinticinco para el limón. El limoneno y el mirceno fueron los únicos dos compuestos detectados en las cuatro especies de Argentina y Estados Unidos; mientras que había 14 compuestos que solo se detectaron en aceites esenciales de limón.

En cuanto a los resultados de actividad antioxidante el aceite esencial (AE) de limón presentó los mejores valores tanto en la determinación de CUPRAC como DPPH.

Los resultados del poder inhibitorio de los AEC de los 3 orígenes diferentes contra todas las cepas de bacterias se visualiza en la Tabla 1. Se observó una amplia variación en las propiedades antimicrobianas de los aceites con una variación del halo de inhibición que estaba en el rango de 6-24 mm. El AE de pomelo US y el AE de limón AR y US se analizaron contra *E. coli*. Los valores de CMI oscilaron entre 0,33 y 0,55 mg / ml, y los valores de CMB, entre 0,42 y 0,95 mg / ml. Entre ellos, los AE US presentaron menos CMI y CMB que los de AR. Los resultados de AE de limón para CMI y CMB fueron 0,55 mg / ml y 0,95 mg / ml para el tipo AR y 0,33 mg / ml y 0,42 mg / ml para el tipo de US, respectivamente. Por otro lado, el AE de pomelo US presentó 0.35 y 0.48 mg / mL para CMI y CMB respectivamente. La fuerte actividad antibacteriana del AE de pomelo evidenciada en los diámetros de inhibición más altos (20 a 24 mm) fue confirmada por los valores más bajos de CMI y CMB observados contra *E. coli*.

## CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias significativas entre el perfil químico de los AEC argentinos y los AEC

estadounidenses. Se observó una actividad antibacteriana selectiva de los AE de pomelo y limón contra bacterias patógenas (*E. coli*) y bacterias beneficiosas (*L. plantarum* ATCC 8014 y *L. plantarum* ES147), con una actividad antibacteriana disminuida en las bacterias benéficas que puede ser positiva ya que bacterias como *L. plantarum* juegan un papel importante en nuestro cuerpo. Los aceites esenciales de especies de cítricos de Argentina pueden proporcionar bioactividades adicionales que pueden ser utilizadas por las industrias de fragancias cosméticas, nutracéuticas y farmacéuticas.

## REFERENCIAS

- Clinical and Laboratory Standards Institute (2013) M100-S23 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI Doc. M100-S23 1–35
- Finch, H.J.S., Samuel, A.M., Lane, G.P.F. No Title. In: Finch HJS, Samuel AM, Lane GPF (eds) Lockhart & Wiseman's Crop Husbandry Including Grassland, Ninth Edit. Woodhead Publishing Limited (2014)
- Gutiérrez, C., Rodríguez, J.F., Gracia, I., "Preparation and characterization of polystyrene foams from limonene solutions", *J Supercrit Fluids* **88**, 92–104 (2014).
- Luciardi, M.C., Blazquez, M.A., Cartagena, E., "Mandarin essential oils inhibit quorum sensing and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*", *LWT - Food Sci Technol* **68**, 373–380 (2016).
- Randazzo, W., Jiménez-Belenguer, A., Settann, L., "Antilisterial effect of citrus essential oils and their performance inedible film formulations", *Food Control* **59**, 750–758 (2016).
- Serra, M., Garnero, J., Nicolau, V., Andreatta, A.E., "Assessment of natural vegetal extracts in the inhibition of *Leuconostoc mesenteroides* MS1", *Agriscientia* **35**, 51–62 (2018).

**Tabla 1.** Zona de inhibición (mm) de aceites esenciales contra *L. plantarum* ATCC 8014, *L. plantarum* ES 147, *L. mesenteroides* MS1 y *E. coli*

Aceite Esencial de Cítricos	Origen	Zona de inhibition /mm*			
		<i>L. plantarum</i> ES 147	<i>L. plantarum</i> ATCC 8014	<i>L. mesenteroides</i> MS1	<i>E. coli</i>
Pomelo	Argentina	5.00 ± 0.10 A	7.67 ± 0.52 B	n.i.	5.83 ± 0.98 A
	US	8.33 ± 1.37B	10.00 ± 0.89 C	7.00 ± 0.89 B	21.27 ± 1.60 B
	Comercial	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
	Promedio	6.11	7.56	5.66	10.7
Limón	Argentina	10.00 ± 3.41B	7.17 ± 2.56 A	7.00 ± 2.28 A	14.50 ± 3.15 B
	US	8.00 ± 0.63 B	8.83 ± 1.94 A	10.5 ± 1.76 B	16.50 ± 1.05 B
	Comercial	n.i.	6.00 ± 0.00 A	n.i.	8.00 ± 0.0 A
	Promedio	7.66	7.33	7.5	13.00
Mandarina	Argentina	7.67 ± 0.52 C	6.67 ± 0.82 B	n.i.	6.50 ± 0.55 A
	US	6.33 ± 0.52 B	6.33 ± 1.21 B	n.i.	8.67 ± 4.13B
	Comercial	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
	Promedio	6.33	6.00	n.i.	6.72
Naranja	Argentina	7.17 ± 0.98 B	n.i.	n.i.	5.50 ± 0.63 A
	US	7.00 ± 0.89 B	n.i.	n.i.	6.00 ± 0.50 A
	Comercial	n.i.	n.i.	n.i.	6.00 ± 0.0 A
	Promedio	6.39	5.00	5.00	5.83

\* El área de inhibición incluye los 5 mm del disco; n.i: no inhibición

a La misma letra en las columnas opera cada aceite esencial significa que no presentan diferencias significativas (P<0.05).

b Valores expresados como el promedio de 4 réplicas para cada origen (12 repeticiones)