

Composición química y evaluación del sinergismo de la actividad antioxidante de mezclas de los aceites esenciales de *Luma chequen* (Arrayan) y *Citrus maxima* (Pomelo).

Chemical composition and evaluation of the synergism of the antioxidant activity of blends of the essential oils of *Luma chequen* (Arrayan) and *Citrus maxima* (Grapefruit)

Carla del Carpio-Jiménez^{1,2}, R. Giancarlo Gutierrez-Chavez², H. Angelica Quispe-Dávila³, Ciro Tomaylla-Cruz⁴ and Mario J. Urrunaga-Ormachea^{2*}

¹Laboratorio de Tecnología Farmacéutica, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco
delcarpiojc_daqf@unsaac.edu.pe. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7487-354X>

²Departamento Académico de Farmacia, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco
roger.gutierrezch@unsaac.edu.pe. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1672-9117>
mario.urrunaga@unsaac.edu.pe. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3451-8890>

³Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco
161156@unsaac.edu.pe

⁴Departamento Académico de Química, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco
ciro.tomaylla@unsaac.edu.pe. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6921-1250>

*Correspondence: mario.urrunaga@unsaac.edu.pe; Tel.: +51-984225514

Available from: <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.01.63>

RESUMEN

Los aceites esenciales son componentes bioactivos usados en áreas como la medicina, la farmacia, la cosmética y la industria alimentaria, se emplean como conservantes por sus propiedades antioxidantes. El objetivo de la presente investigación fue extraer, determinar las propiedades fisicoquímicas y cuantificar por cromatografía de gases/espectrometría de masas los principales componentes de los aceites esenciales de *Luma chequen* y *Citrus maxima*, así como evaluar la actividad antioxidante de la mezcla de ambos aceites usando el método de inhibición del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS•+). El rendimiento de extracción fue de 0,82% y de 0,95% para *Luma chequen* y *Citrus maxima* respectivamente. El pH fue de 4,5 y 5,5; la densidad fue de 0,877 g/ml y 0,844 g/ml y el índice de refracción fue de 1,4688 y 1,4741 respectivamente. Ambos aceites esenciales presentan alto contenido de monoterpenos siendo el α -pineno (57,6%) el más abundante para *Luma chequen* y el limoneno (30,3%) para *Citrus maxima*. Respecto a la actividad antioxidante; la inhibición del radical ABTS•+ fue de 49,1% y 93,4% respectivamente, sin embargo, la mezcla constituida por 50% de aceite esencial de *Luma chequen* y 50% de aceite esencial de *Citrus maxima* presentó un porcentaje de inhibición de 102,8%, evidenciándose sinergismo.

Keywords: *Luma chequen*, *Citrus maxima*, antioxidante, monoterpenos, sinergismo

ABSTRACT

Essential oils are bioactive compounds used in areas such as medicine, pharmacy, cosmetics, and the food industry, and are used as preservatives due to their antioxidant properties. The aim of the present investigation was to extract, determine the physicochemical properties and quantify by gas chromatography/mass spectrometry the main components of the essential oils of *Luma chequen* and *Citrus maxima*, as well as to evaluate the antioxidant activity of the mixture of both oils using the 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid radical (ABTS•+) inhibition method. The extraction yield was 0.82% and 0.95% for *Luma chequen* and

Citrus maxima respectively. The pH was 4.5 and 5.5; specific gravity was 0.877 g/ml and 0.844 g/ml, and refractive index was 1.4688 and 1.4741 respectively. Both essential oils have a high content of monoterpenes, α -pinene (57.6%) is the most abundant for *Luma chequen* and limonene (30.3%) for *Citrus maxima*. Regarding the antioxidative activity, the inhibition of the ABTS•+ radical was 49.1% and 93.4% respectively, however, the mixture consisting of 50% essential oil of *Luma chequen* and 50% essential oil of *Citrus maxima* presented an inhibition percentage of 102.8%, showing synergism.

Keywords: *Luma chequen*, *Citrus maxima*, antioxidant, monoterpenes, synergism

INTRODUCCIÓN

En la actualidad existe un gran interés por el uso de componentes bioactivos provenientes de plantas como una alternativa al uso de compuestos químicos en diferentes áreas como la medicina, agronomía, perfumería y la industria alimentaria, lo que ha incrementado las investigaciones en este campo¹⁻³.

Los aceites esenciales (AE) se utilizan ampliamente como componentes de medicamentos, aditivos biológicamente activos y suplementos dietéticos, así como en aromaterapia, industria alimentaria y cosmética. Su uso está muy extendido debido a su olor agradable o picante⁴.

Los AE son reconocidos por sus propiedades antioxidantes, y se emplean ampliamente como conservantes para proteger componentes susceptibles de oxidación y para otorgar determinadas características organolépticas deseables por los consumidores⁵.

Los AE son compuestos aromáticos volátiles generados por el metabolismo secundario de las plantas. Cada AE está compuesto por varios componentes, principalmente terpenos y terpenoides, incluidos derivados oxigenados, como aldehídos, cetonas, alcoholes, éteres, ésteres y epóxidos⁶. También se sabe que algunos AE contienen átomos de nitrógeno, azufre o cloro en su estructura^{7,8}. Además, los AE contienen dobles enlaces conjugados y grupos funcionales fenólicos. En los últimos años se han estudiado en profundidad sus importantes propiedades para la eliminación de radicales libres⁹⁻¹¹.

El pequeño tamaño de las moléculas de los AE les permite penetrar fácilmente las paredes celulares y afectar a diversos procesos bioquímicos. La actividad biológica de los aceites esenciales depende de su composición. El timol, el carvacrol y el eugenol son los antioxidantes más potentes contenidos en los AE¹²⁻¹⁴.

Los efectos adversos producidos por varios conservantes sintéticos entre los que destacan el hidroxitolueno, el ácido etilendiaminotetraacético disódico (EDTA disódico), el ácido cítrico y los polifosfatos incluyen dolor de cabeza, náuseas, debilidad, retraso mental, convulsiones, anorexia y efectos cancerígenos que han sido evidenciados en investigaciones previas^{15,16}, lo que hace evidente la necesidad de buscar alternativas naturales. La actividad antioxidante de los aceites esenciales cobra mayor relevancia en alimentos con alto contenido lipídico ya que son más susceptibles de sufrir oxidaciones¹⁷.

Se conoce que los principales componentes antioxidantes de los AE son los compuestos fenólicos y los terpenos. Los compuestos fenólicos pueden ejercer su acción ya sea actuando como agentes quelantes de iones metálicos, favoreciendo la eliminación de radicales libres ya existentes y eliminando carbonilos provenientes de lípidos ya que estos podrían reaccionar con otras moléculas como proteínas, monosacáridos y otros¹⁷.

Se han realizado diversos estudios sobre la actividad antioxidante de diferentes tipos de aceites esenciales, pero son escasos los estudios que evalúan el efecto antioxidante de la mezcla de 2 o más aceites esenciales provenientes de diferentes especies. Este efecto sinérgico entre aceites esenciales podría mejorar el efecto antioxidante por la complejidad de los componentes en cada uno de los aceites esenciales donde los componentes de uno pueden ayudar a potenciar los efectos del otro, permitiendo el uso de concentraciones mucho más bajas y efectivas, además esta interacción sinérgica puede reducir los efectos secundarios adversos, así como los efectos organolépticos negativos y, así mejorar la aceptación del producto por parte del consumidor^{17,18}.

Luma chequen (Arrayan) es una especie que pertenece al género *Luma* y a la familia Myrtaceae crece entre los 2 500 y 4 000 msnm en diferentes regiones del Perú, Bolivia y Chile y es capaz de adaptarse a zonas húmedas y suelos arenosos, su aceite esencial tiene propiedades antibacterianas, fungicidas, ansiolíticas y antioxidantes¹⁹⁻²¹.

Citrus maxima (Pomelo) pertenece al género *Citrus* y familia Rutaceae, los cítricos de esta familia se encuentran entre los cultivos más comerciales de regiones de clima tropical y subtropical, la cáscara de los cítricos son una valiosa materia prima para la producción de aceites esenciales con amplios usos en la cosmética, agricultura, medicina y otros, los terpenoides presentes poseen actividades insecticidas, repelentes, ansiolíticas y antioxidantes^{22,23}.

En el presente estudio se propone evaluar el efecto antioxidante de la mezcla de los aceites esenciales de *Luma chequen* y *Citrus maxima*, como una alternativa al uso de antioxidantes sintéticos, aprovechando la eficacia a concentraciones mucho más bajas que si se evaluaran por separado, reduciendo efectos secundarios y tóxicos, disminuyendo las alteraciones organolépticas negativas y logrando estabilizar alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. Se conoce que las alternativas de origen natural como los aceites esenciales resultan más económicas, poseen amplia disponibilidad y mejor biodegradabilidad, pudiendo convertirse en una alternativa más inocua frente a las sustancias sintéticas^{15,16}.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las especies vegetales *Luma chequen* (Arrayan) y *Citrus maxima* (Pomelo) fueron recolectadas en la localidad de Huertawayq'o en la provincia de Calca, Cusco, Perú. La identificación taxonómica fue realizada por el botánico adscrito al Herbario Vargas CUZ en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Extracción de los aceites esenciales

La extracción de los aceites esenciales se realizó por separado en un destilador usando el método por arrastre de vapor de agua. En el caso de *Luma chequen* se usaron las hojas frescas y en *Citrus maxima* las cáscaras frescas. Los aceites obtenidos se secaron usando sulfato de sodio anhidro. Los aceites esenciales obtenidos fueron almacenados a una temperatura de 4 °C al abrigo de la luz usando frascos de color ámbar hasta su análisis y caracterización.

Características organolépticas y propiedades fisicoquímicas de los aceites esenciales

Las características organolépticas evaluadas de ambos aceites esenciales fueron olor, color, textura y sabor. Las propiedades fisicoquímicas evaluadas fueron densidad a 20°C, pH y el índice de refracción usando los métodos oficiales de la AOAC (2006)²⁴.

Cuantificación de los componentes químicos de los aceites esenciales

Los componentes químicos de cada uno de los aceites esenciales fueron determinados usando una columna Agilent HP-5 de 30 m x 0,32 mm x 0,25 µm en un cromatógrafo de gases (Agilent 7820 A) acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM). Las condiciones establecidas para el método fueron: Temperatura de la columna 50 °C durante el primer minuto incrementándose 3°C/min gradualmente hasta 200 °C. El flujo de helio fue de 1 mL/min. El volumen de inyección fue de 1µL. La detección se realizó a 220 °C. La inyección Split tuvo la proporción 50:1.

Sinergismo de la actividad antioxidante de las mezclas binarias de los aceites esenciales de *Luma chequen* y *Citrus maxima*

La actividad antioxidante se determinó mediante el método ABTS²⁵. El catión radical ABTS•+ se preparó mediante la reacción de 7 mM de ABTS y 2,45 mM de persulfato de potasio, se incubó a 25°C en la oscuridad durante 16 horas. La solución de catión radical ABTS se diluyó con metanol al 80% (disuelto con agua pura) para obtener una absorbancia de $0,700 \pm 0,005$ a 734 nm (A_{control}). 3,9 ml de la solución anterior se añadió a 0,1 ml de la muestra problema (AE a diferentes concentraciones como se muestra en la Tabla 5) y se mezcló enérgicamente y se dejó en reposo por 6 minutos y la absorbancia a 734 nm (A_{muestra}) se registró inmediatamente en el espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific Evolution™ 201/220. Como control positivo se usó Trolox. El porcentaje de inhibición fue calculado con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \times 100$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Extracción del aceite esencial

El método utilizado para la extracción de los aceites esenciales fue la destilación por arrastre de vapor de agua. El resultado obtenido para cada una de las especies vegetales se muestran en la Tabla 1.

Fuente vegetal	Porcentaje de extracción
<i>Luma chequen</i>	0,82%
<i>Citrus maxima</i>	0,95%

Tabla 1: Porcentaje de rendimiento del aceite esencial de las hojas de *Luma chequen* y de las cáscaras de *Citrus maxima*.

Los resultados muestran porcentajes diferentes para las dos especies en estudio, en este punto es necesario tener en cuenta las diferencias en la taxonomía pues las plantas pertenecen a familias biológicas distintas, y por ello responden diferente al medio ambiente, biosintetizando metabolitos o grupos fitoquímicos diferentes tanto en proporciones como en componentes²⁶. En el estudio desarrollado por Borja et al.¹⁹ se reportó un porcentaje de extracción de 0,52% para la especie *Luma chequen*, porcentaje inferior al encontrado en el presente trabajo de investigación. Por otro lado, Visakh et al.²⁷, reportaron un porcentaje de extracción de 0,58% para las cáscaras de *Citrus maxima* usando el método de hidrodestilación, este porcentaje se encuentra por debajo del encontrado en nuestra investigación. Es importante destacar que la composición química y la cantidad de componentes de los aceites esenciales varía en función de la geografía, la genética, el origen botánico, los endofitos bacterianos y las técnicas de extracción¹⁴.

Características organolépticas y propiedades fisicoquímicas de los aceites




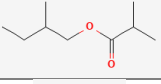



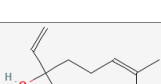




La Tabla 2, muestra las características organolépticas y fisicoquímicas de los aceites esenciales de *Luma chequen* y *Citrus maxima*, debiendo resaltarse que los resultados están dentro de los parámetros establecidos para cada una de las especies en investigaciones previas.

Características organolépticas	<i>Luma chequen</i>	<i>Citrus maxima</i>
Color	Amarillo pálido	Amarillo pálido a incoloro
Olor	Herbáceo, alcanforado, amaderado, balsámico	Característico, cítrico potente, dulce
Sabor	Menta fuerte alcanforado	Cítrico potente
Aspecto	oleoso	oleoso
Características fisicoquímicas		
pH	4,5	5,5
Densidad (20°)	0,877g/ml	0,844 g/ml
Índice de refracción (20°)	1,4688	1,4741

Tabla 2: Características organolépticas y propiedades fisicoquímicas del aceite esencial de *Luma chequen* y *Citrus maxima*.

Composición química de los aceites esenciales de *Luma chequen* y *Citrus maxima*

En la Tabla 3, se detallan los componentes mayoritarios del aceite esencial de las hojas de *Luma chequen*, destacando el α -pineno con un 57,6% como el principal componente, seguido del 1,8-cineol con un 9,4%, β -pineno con 5,6%, linalool con 3,8% y limoneno con 2,7%.

Pico	IR Calc	Componente	Estructura Química	Peso Molecular (g/mol)	Tipo	Porcentaje %
1	983	α -Tujeno		136,23	MH	1,4
2	990	α-Pineno		136,24	MH	57,6
3	1010	β-Pineno		136,24	MH	5,6
4	1037	Isobutirato metil butilo		158,24	--	1,5
5	1042	Limoneno		136,24	MH	2,7
6	1044	1,8-Cineol		154,25	MO	9,4
7	1064	Oxido de linalool		170,25	MO	0,7
8	1101	Linalool		154,25	MO	3,8
9	1183	α -Terpineol		154,25	MO	1,9
10	1407	β-Cariofileno		204,35	SH	1,3
11	1475	Germacreno d		204,35	SH	2,1
12	1485	β-Selineno		204,35	SH	2,5
Otros						9,5

MH: Monoterpenos hidrocarbonados (67,3%); MO: Monoterpenos oxigenados (15,8%); SH: Sesquiterpenos hidrocarbonados (5,9%).

Tabla 3: Composición química del aceite esencial de las hojas de *Luma chequen*.

El análisis de CG-MS realizado por Borja et al.¹⁹, reportó un 44% de α -pineno, seguido de un 9,4% de 1,8-Cineol, resultados similares a los hallados en la presente investigación, asimismo es interesante mencionar la presencia del sesquiterpeno β -Selineno en ambas investigaciones, siendo los porcentajes 4,7% y 2,5% respectivamente.

En cuanto a la proporción de monoterpenos en el trabajo de Borja et al.¹⁹, se llegó a un 70,8%, siendo los componentes mayoritarios el α -pineno, 1,8-cineol, limoneno, β -pineno y linalool, los sesquiterpenos

constituyeron 18,1% destacando los selinenos: α -Selina, β -Selina y δ -Selinen en un 10,9%. En nuestro caso como se muestra en la Tabla 3, los monoterpenos llegan a un 83,1% (MH= 67,3% + MO=15,8%) mientras que los sesquiterpenos alcanzaron sólo 5,9%. Este último porcentaje de los sesquiterpenos es más parecido al encontrado por Gonçalves et al²⁸. quienes reportaron 3,1% de sesquiterpenos en el aceite esencial de *Luma chequen*.

En la Figura 1, se aprecia el cromatograma en el que destacan los picos de los componentes identificados por cromatografía de gases – espectrometría de masas en el aceite esencial de *Luma chequen*.

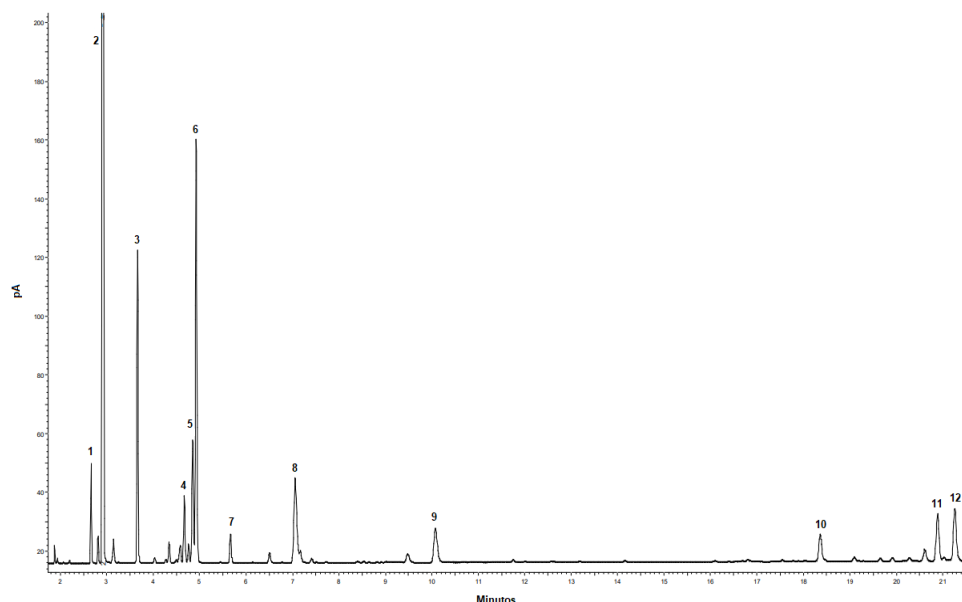





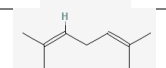
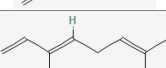


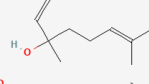
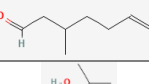

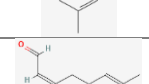
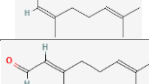
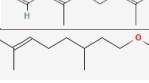







Figura 1: Cromatograma GC-MS de los componentes del aceite esencial de *Luma chequen*. (1) α -Tujeno; (2) α -Pino; (3) β -Pino; (4) Isobutirato metil butilo; (5) Limoneno; (6) 1,8-Cineol; (7) Oxido de linalool; (8) Linalool; (9) α -Terpineol; (10) β -Cariofileno; (11) Germacreno d; (12) β -Selineno

En la Tabla 4, se detallan los componentes mayoritarios del aceite esencial de las cáscaras de *Citrus maxima*, destacando el limoneno con 30,3% como el principal componente, seguido del β -pino con 29,6,1%, E- β -ocimeno con 10,0%, citronelal con 3,3% y mirceno con 3,2%.

Pico	IR Calc	Componente	Estructura Química	Peso Molecular (g/mol)	Tipo	Porcentaje %
1	989	α -pino		136,24	MH	1,7
2	1009	β -pino		136,24	MH	29,6
3	1020	Mirceno		136,24	MH	3,2
4	1034	α -terpino		136,24	MH	1,1
5	1042	Limoneno		136,24	MH	30,3
6	1051	Z- β -ocimeno		136,24	MH	0,5
7	1058	E-β-ocimeno		136,24	MH	10,0

8	1064	γ -Terpineno		136,24	MH	2,0
9	1086	Terpinoleno		136,23	MH	0,6
10	1101	Linalool		154,25	MO	0,8
11	1148	Citronelal		154,25	MO	3,3
12	1167	Terpinen-4-ol		154,25	MO	1,7
13	1234	Neral		152,23	MO	0,5
14	1267	Geranial		152,23	MO	0,6
15	1356	Acetato cit- ronelila		198,30	MO	0,7
16	1385	Eugenol		164,20	MO	2,4
17	1407	β -cari- ofileno		204,35	SH	2,7
18	1494	Aromaden- dreno		204,35	SH	1,7
19	1693	Farnesol		222,37	SO	0,9
20	2256	Nootkatona		218,33	SO	0,1
Otros						5,5

MH: Monoterpenos hidrocarbonados (79%); **MO:** Monoterpenos oxigenados (10%); **SH:** Sesquiterpenos hidrocarbonados (4,4%); **SO:** Sesquiterpenos oxigenados (1%).

Tabla 4: Composición química del aceite esencial de las cáscaras de *Citrus maxima*.

De acuerdo a los resultados evidenciados por Visakh et al.²⁷, los componentes predominantes en el aceite de *C. maxima* fueron limoneno (33,61%), β -sitosterol (17,99%), α -sitosterol (12,19%), estigmasterol (5,22%) y α -pineno (4,32%). En el estudio realizado por Hardjono et al.²⁹, se obtuvo un contenido de limoneno de 90,43%, porcentaje elevado comparado con el obtenido en el presente trabajo de investigación, que a pesar de que también es el componente mayoritario sólo alcanzó un 30,3%. El limoneno es el principal componente de los aceites esenciales de las cáscaras de *Citrus sp.*, se utiliza mucho como aditivo de sabor y fragancia en perfumes, bebidas, detergentes y jabones³⁰. Últimamente se está estudiando el limoneno como un disolvente de la espuma de poliestireno porque se ha demostrado que puede ser utilizado como agente destructor de los residuos de espuma de poliestireno procedentes de los envases de alimentos, electrónicos, planchas de espuma de vidrio y vasos, siendo importante destacar que es un disolvente respetuoso con el medio ambiente²⁹.

En la Figura 2, se aprecia el cromatograma en el que destacan los picos de los componentes identificados por cromatografía de gases – espectrometría de masas en el aceite esencial de *Citrus maxima*.

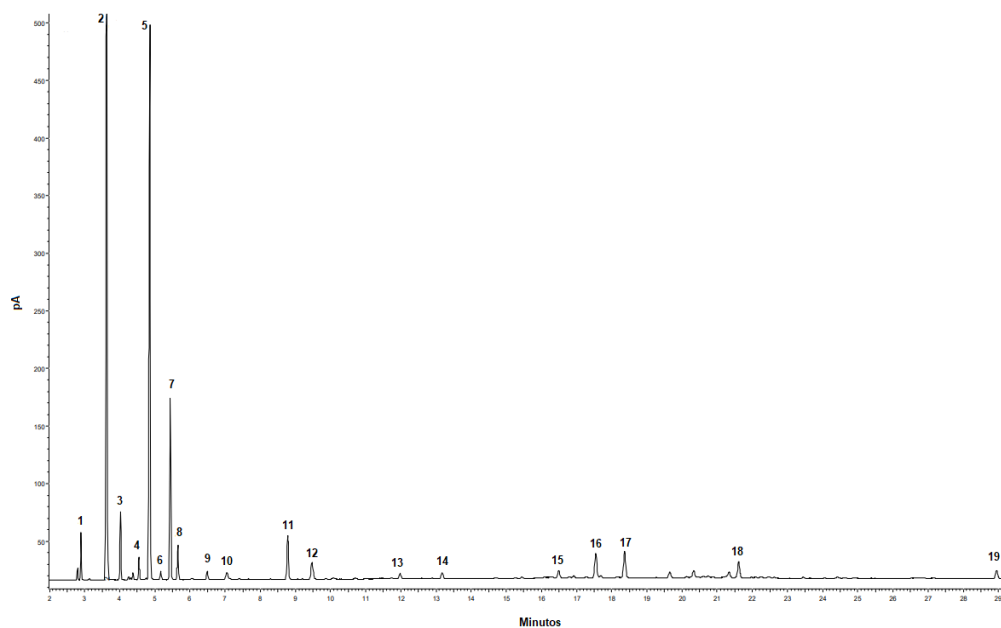


Figura 2: Cromatograma GC-MS de los componentes del aceite esencial de *Citrus maxima*. (1) α -pineno; (2) β -Pineno; (3) Mirceno; (4) α -terpineno; (5) Limoneno; (6) Z- β -ocimeno; (7) γ -Terpineno; (8) Terpinoleno; (9) Linalool; (10) Citronelal; (11) Terpinen-4-ol; (12) Neral; (13) Geranial; (14) Acetato citronelila; (15) Eugenol; (16) β -cariofileno; (17) Aromadendreno; (18) Farnesol; (19) Nootkatona.

La composición de los aceites esenciales producidos por las plantas se ve influida por muchos factores tales como la estacionalidad, la temperatura, luminosidad, agua y la disponibilidad de nutrientes, ataque de plagas, enfermedades y la genética³¹. La variación en la composición química de los aceites esenciales puede afectar a su actividad biológica³².

Sinergismo de la actividad antioxidante de la mezcla binaria de los aceites esenciales de Luma chequen y Citrus maxima

El sinergismo de la actividad antioxidante fue evaluada usando el ensayo de ABTS, se realizaron las mezclas binarias de los aceites esenciales de *Luma chequen* y *Citrus maxima* en diferentes proporciones como se detalla en la Tabla 5. Los resultados del porcentaje de inhibición del catión $ABTS^{\bullet+}$ se muestran en la siguiente Tabla:

Mezcla	<i>Luma chequen</i>	<i>Citrus maxima</i>	% de inhibición
1	0	100	93.4
2	6	94	98.9
3	13	87	96.9
4	25	75	101.9
5	50	50	102.8
6	75	25	99.2
7	87	13	97.8
8	94	6	100.3
9	100	0	49.1

Tabla 5: Porcentaje de inhibición del radical $ABTS^{\bullet+}$ de las mezclas binarias de los aceites de *Luma chequen* y *Citrus maxima*.

La Tabla 5 nos muestra los resultados obtenidos para el porcentaje de inhibición del radical $ABTS^{\bullet+}$ de los aceites esenciales de *L. chequen* y *C. maxima* por separado, destaca el aceite esencial de *Citrus maxima* que obtuvo un 93,4% de inhibición, en tanto que el aceite esencial de *Luma chequen* obtuvo solamente 49,1%, siendo casi la mitad de lo obtenido por *C. maxima*. Los resultados experimentales ponen de manifiesto que la mezcla 5 constituida por 50% de aceite esencial de *Luma chequen* y 50% de aceite esencial de *Citrus maxima*

que logró un porcentaje de inhibición de 102.8%. La mezcla 4 que contiene 25% de aceite esencial de *L. chequen* y 75% de aceite esencial de *C. maxima* logró un porcentaje de inhibición de 101.9% siendo la segunda mezcla con mejores resultados de inhibición. Estos resultados ponen de manifiesto que las mezclas en las que el aceite esencial de *C. maxima* se encuentra en mayor proporción tienen mejores resultados.

La investigación sobre las combinaciones de los aceites esenciales en diferentes porcentajes permite establecer información sobre la interacción de los componentes mayoritarios y minoritarios presentes. En nuestro estudio los componentes mayoritarios son el α -pineno y limoneno respectivamente. Las diferentes interacciones entre los componentes mayoritarios pueden dar lugar a los efectos sinérgicos³³. La actividad resultante de estas combinaciones puede ser mayor/menor o igual que la observada para el aceite puro.

En estudios anteriores como el desarrollado por de Araujo et al³⁴ se ha demostrado que, en las mezclas binarias de aceites esenciales, la mayor actividad antioxidante exhibida por los aceites esenciales en comparación con sus simulaciones (constituidas únicamente por los compuestos mayores) evidencia que esta actividad no está relacionada únicamente con la presencia de los compuestos mayores, es decir, estaría relacionada con el sinergismo tanto de los componentes mayoritarios y minoritarios encontrados en los aceites esenciales.

Los aceites de cítricos han atraído la atención de los investigadores en los últimos años porque pueden obtenerse como principios activos a partir de subproductos de la industria del zumo. Los aceites de naranja o bergamota se extraen mediante hidrodestilación de las cáscaras tras la extracción del zumo, siendo una materia prima secundaria que puede utilizarse eficientemente en el contexto de la economía circular³⁵.

Actualmente el estudio de las mezclas de aceites esenciales (AE) ha despertado el interés de los investigadores en la búsqueda de nuevos antioxidantes naturales debido a la disponibilidad del recurso vegetal, la menor presencia de efectos secundarios o toxicidad, y la mejor biodegradabilidad en comparación con los conservantes sintéticos disponibles^{36,37}.

CONCLUSIONES

El uso de antioxidantes sintéticos ha dado lugar a carcinogenicidad, por lo que ha surgido el interés de sustituir estos productos químicos por aditivos naturales con capacidad antioxidante, como los aceites esenciales. La demanda por antioxidantes naturales ha aumentado debido a la preocupación por la salud y la tendencia a llevar un estilo de vida saludable. Por ello, los aceites esenciales que han demostrado tener componentes con buena actividad antioxidante se consideran una alternativa de interés científico debido a sus diversas aplicaciones.

En la presente investigación se obtuvo un porcentaje de rendimiento de 0,82% y 0,95% para el aceite de *Luma chequen* y *Citrus maxima* respectivamente. Dentro de las propiedades fisicoquímicas se determinó un pH de 4,5 y 5,5; una densidad de 0,877 g/ml y 0,844 g/ml, un índice de refracción de 1,4688 y 1,4741 para *Luma chequen* y *Citrus maxima* respectivamente. En la composición química del aceite de *Luma chequen* destacan los monoterpenos hidrocarbonados en un 67,3%, siendo el α -Pineno el más abundante (57,6%), seguido del 1,8-Cineol (9,4%), en el aceite de *Citrus maxima* destacan también los monoterpenos en un 79%, siendo limoneno el más abundante (30,3%) seguido del β -pineno (29,6%). Respecto a la actividad antioxidante; se obtuvo como resultado de inhibición del radical ABTS•+ para el aceite esencial de *Citrus maxima* un 93,4% de inhibición, mientras que para el aceite esencial de *Luma chequen* solamente un 49,1% de inhibición, en tanto que, los resultados experimentales mostraron que la mezcla constituida por un 50% de aceite esencial de *Luma chequen* y 50% de aceite esencial de *Citrus maxima* presentó el porcentaje de inhibición más alto con un 102.8%, demostrándose que existe un sinergismo.

Contribuciones de los autores: Conceptualización, C.D.C-J., M.U.O., A.Q.; metodología, C.D.C-J., R.G.G.C., C.T.C., A.Q. y M.U.O., redacción—preparación del borrador original, C.D.C-J., R.G.G.C., y M.U.O.; redacción—revisión y edición, C.D.C-J. y M.U.O. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

Financiamiento: Este artículo ha sido financiado por los autores.

Conflictos de intereses: Los autores declaramos no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. Castro-Alayo, E.M.; Chávez, S.G.; Auquiñivín EA, Fernández AB, Acha O, Rodríguez N... & Sepúlveda, D.R. Essential oils of native plants from Peru: Effect of the place of cultivation on the physicochemical characteristics and antioxidant activity. *Sci Agropecu.* **2019**,10(4):479-87. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.04.04>
2. Van Haute, S.; Raes K.; Van der Meeren, P.; Sampers, I. The effect of cinnamon, oregano and thyme essential oils in marinade on the microbial shelf life of fish and meat products. *Food Control.* **2016**,68:30-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.03.025>
3. Alarcon, A.I.; Mora, J.L.; Cabrera, D.O.; Garcia, F.S. Estudio Comparativo de la Composición Química, Fenoles Totales y Actividad Antioxidante de *Citrus sinensis*, *Citrus reticulata* y *Citrus maxima*. *RECIA-MUC.* **2022**,6(3):535-45. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.535-545](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.535-545)
4. Misharina, T.A. & Samusenko, A.L. Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures. *Applied Biochemistry and Microbiology.***2008**, 44, 438-442. <https://doi.org/10.1134/S0003683808040182>
5. Crespo, Y.A.; Sánchez, L.R.B.; Quintana, Y.G.; Cabrera, A.S.T.; Del Sol, A.B.; Mayancha, D.M.G. Evaluation of the synergistic effects of antioxidant activity on mixtures of the essential oil from *Apium graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. and *Coriandrum sativum* L. using simplex-lattice design. *Heliyon.* **2019**, 5(6), e01942. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01942>
6. Bajpai, V.K.; Baek, K.H. Biological efficacy and application of essential oils in foods-A review. *Essent. Oil-Bear. Plants.* **2016**, 19, 1–19.
7. Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem. Toxicol.* **2008**,46, 446–475. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.935033>
8. Nagella, P.; Ahmad, A.; Kim, S.J.; Chung, I.M. Chemical composition, antioxidant activity and larvicidal effects of essential oil from leaves of *Apium graveolens*. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **2012**,34, 205–209. <https://doi.org/10.3109/08923973.2011.592534>
9. Aruoma, O.I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **1998**,75, 199–212. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0032-9>
10. Baj, T.; Baryluk, A.; Sieniawska, E. Application of mixture design for optimum antioxidant activity of mixtures of essential oils from *Ocimum basilicum* L., *Origanum majorana* L. and *Rosmarinus officinalis* L. *Ind. Crops Prod.* **2018**,115, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.006>
11. Kamatou, G.P.P.; Viljoen, A.M. A review of the application and pharmacological properties of α -bisabolol and α -bisabolol-rich oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2010**,87, 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1483-3>
12. Amerah, A.M.; Ouwehand, A.C. Use of essential oils in poultry production. In: *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Victor R. Preedy; Elsevier:London, UK. **2016**,101–110. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00010-9>
13. Elgndi, M.A.; Filip, S.; Pavlič, B.; Vladić, J.; Stanojković, T.; Žižak, Ž.; Zeković, Z. Antioxidative and cytotoxic activity of essential oils and extracts of *Satureja montana* L., *Coriandrum sativum* L. and *Ocimum basilicum* L. obtained by supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids.* **2017**,128, 128-137. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2017.05.025>
14. Firenzuoli, F.; Jaitak, V.; Horvath, G.; Bassolé, I.H.N.; Setzer, W.N.; Gori, L. Essential oils: new perspectives in human health and wellness. *J. Evid Based Complement. Altern. Med.* **2014**, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/467363>.
15. Basavegowda, N.; Baek, K.H. Synergistic Antioxidant and Antibacterial Advantages of Essential Oils for Food Packaging Applications. *Biomolecules.* **2021**;11(9):1267. <https://doi.org/10.3390/biom11091267>
16. Bag, A.; Chattopadhyay, R.R. Evaluation of Synergistic Antibacterial and Antioxidant Efficacy of Essential Oils of Spices and Herbs in Combination. Galdiero M, editor. *PLOS ONE.* **2015**,10(7): e0131321. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131321>
17. Juncos, N.S.; Cravero, C.F.; Olmedo, R.H.; Grosso, N.R. El sinergismo de aceites esenciales como modelo para prevenir el deterioro oxidativo y microbiano de los alimentos. *Nexo agropecuario CONICET,* **2021**, 9(1).

18. Sharma, K.; Guleria, S.; Razdan, V.K.; Babu, V. Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. *Ind Crops Prod.* **2020**, *154*:112569. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112569>
19. Borja, M.E.; Jiménez, A.; Miranda, E.M.; Escobedo, F.A. Effect of drying on the extraction yield of *Luma chequen* (Molina) A. Gray essential oil. *Rev Mex Ing Quím.* **2022**, *21*(2): Proc2623-Proc2623.
20. Cadillo, K. Polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray “Arrayan”. Tesis para optar al título profesional. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM. Lima Perú **2020**.
21. Alvarado, P.A.A.; Soto, M.R.; Rosales, L.E.; Jara, D.R.; Benites, S. Anxiolytic-like Effect of *Luma chequen* Essential Oil: A Pilot Study. *Pharmacogn J.* **2021**, *13*(6s):1607-13. <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2021.13.207>
22. Dao, P.T.; Tran, N.Y.T.; Tran, Q.N.; Bach, G.L.; Lam, T.V. Kinetics of pilot-scale essential oil extraction from pomelo (*Citrus maxima*) peels: Comparison between linear and nonlinear models. *Alex Eng J.* **2022**, *61*(3):2564-72. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2021.07.002>
23. Bhandari, D.P.; Poudel, D.K.; Satyal, P.; Khadayat, K.; Dhami, S.; Aryal, D.; Chaudhary, P.; Ghimire, A.; Parajuli, N. Volatile Compounds and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Selected Citrus Essential Oils Originated from Nepal. *Molecules.* **2021**, *26*(21):6683. <https://doi.org/10.3390/molecules26216683>
24. AOAC. Official Methods of Analysis. 18th Edition. Gaithersburg, MD.: Association of Official Analytical Chemists; **2006**.
25. Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine.* **1999**, *26*(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
26. Gros, E.; Pomilio, A.; Seldes, A.; Burton G. Introducción al estudio de los productos naturales. Monografía N° 30. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, Washington, D.C., EEUU. **1985**.
27. Visakh, N.U.; Pathrose, B.; Narayanankutty, A.; Alfarhan, A.; Ramesh, V. Utilization of Pomelo (*Citrus maxima*) Peel Waste into Bioactive Essential Oils: Chemical Composition and Insecticidal Properties. *Insects.* **2022**, *13*, 480. <https://doi.org/10.3390/insects13050480>
28. Gonçalves, M. J.; Cavaleiro, C.; da Cunha, A. P.; Salgueiro, L. R. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Commercially Available Oil of *Luma chequen* (Molina) A. Gray. *Journal of Essential Oil Research*, **2006**, *18*(1), 108–110. doi:10.1080/10412905.2006.9699402
29. Hardjono, H.; Dewi, E.N.; Lusiani, C.E.; Febriansyah, I.; Bachtiar, R.I. D-limonene from orange (*Citrus maxima*) peel extraction as destructive agent of styrofoam waste. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. **2021**, *1073*(1), 012013. DOI 10.1088/1757-899X/1073/1/012013
30. Erasto, P.; Viljoen, A.M. Limonene-a review: biosynthetic, ecological and pharmacological relevance. *Natural Product Communications.* **2008**, *3*(7). <http://dx.doi.org/10.1177/1934578X0800300728>
31. Gobbo-Neto, L.; Lopes, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova.* **2007**, *30*(2), 374–381. doi:10.1590/s0100-40422007000200026
32. de Moraes, L. A. S. (2009). Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. *Horticultura Brasileira.* 2009, *27*(2), S3299-S3302.
33. Katiki, L.M.; Barbieri, A.M.E.; Araujo, R.C.; Veríssimo, C.J.; Louvandini, H.; Ferreira, J.F.S. Synergistic interaction of ten essential oils against *Haemonchus contortus* in vitro. *Veterinary Parasitology.* **2017**, *243*, 47-51. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.06.008>
34. De Araújo Couto, H.G.S.; Blank, A.F.; de Oliveira e Silva, A.M.; de Lima Nogueira, P.C.; de Fátima Arrigoni-Blank, M.; de Castro Nizio, D.A.; de Oliveira Pinto, J.A. Essential oils of basil chemotypes: major compounds, binary mixtures, and antioxidant activity. *Food Chemistry.* **2019**, *293*, 446-454. doi:10.1016/j.foodchem.2019.04.07
35. Alexa, V.T.; Szuhaneck, C.; Cozma, A.; Galuscan, A.; Borcan, F.; Obistioiu, D.; Dehelean, C.A.; Jumanca, D. Natural Preparations Based on Orange, Bergamot and Clove Essential Oils and Their Chemical Compounds as Antimicrobial Agents. *Molecules* **2020**, *25*, 5502. <https://doi.org/10.3390/molecules25235502>
36. Auddy, B.; Ferreira, M.; Blasina, F.; Lafon, L.; Arredondo, F.; Dajas, F.; Tripathi, P.C.; Seal, T.; Mukherjee, B. Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the

- management of neuro-degenerative diseases. *J. Ethnopharmacol.* **2003**, *84*, 131–138. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00322-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00322-7)
37. Cho, T.J.; Park, S.M.; Yu, H.; Seo, G.H.; Kim, H.W.; Kim, S.A.; Rhee, M.S. Recent Advances in the Application of Antibacterial Complexes Using Essential Oils. *Molecules.* **2020**, *25*, 1752. <https://doi.org/10.3390/molecules25071752>

Received: October 9th 2023/ **Accepted:** January 15th 2024 / **Published:** 15 February 2024

Citation: del Carpio-Jiménez, R. C. Gutierrez-Chavez G., Quispe-Dávila H. A., Tomaylla-Cruz C. and Urrunaga-Ormachea M. J. Chemical composition and evaluation of the synergism of the antioxidant activity of blends of the essential oils of *Luma chequen* (Arrayan) and *Citrus maxima* (Grapefruit). on the Mortality of Two Nematodes in a Laboratory Setting. *Revis Bionatura* 2024; 9 (1) 63. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2024.09.01.63>

Additional information Correspondence should be addressed to mario.urrunaga@unsaac.edu.pe

Peer review information. Bionatura thanks anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work using <https://reviewerlocator.webofscience.com/>

All articles published by Bionatura Journal are made freely and permanently accessible online immediately upon publication, without subscription charges or registration barriers.

Bionatura ISSN. First 13909355 Ecuador. **Scopus coverage years:** from 2016 to the present

Publisher's Note: Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2023 by the authors. They were submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).