



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE
LOS ACEITES ESENCIALES DE *Lippia alba* (Mill.) NE Brown
(VERBENACEAE) Y *Coriandrum sativum* L. (APIACEAE)
(Modalidad: Investigación)

KARLA ROSA RIVAS RUIZ

TRABAJO DE ASCENSO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
ASCENDER A LA CATEGORÍA DE PROFESOR ASISTENTE

CUMANÁ, 2021

ÍNDICE

TABLAS	IV
LISTA DE FIGURAS	V
RESUMEN.....	VI
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	9
Material vegetal.....	9
Extracción del Aceite Esencial.....	9
Análisis Cromatográfico	10
Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de <i>L. alba</i> y <i>C. sativum</i>	11
Reactivación de cepas	11
Pruebas bioquímicas utilizadas para la confirmación de las especies bacterianas.....	13
Preparación del inóculo bacteriano	16
Sensibilidad de diferentes especies bacterianas a los aceites esenciales de <i>L. alba</i> y <i>C. sativum</i>	17
Detección de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales sobre diferentes especies bacterianas.	18
Análisis estadísticos	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
Composición química de los aceites esenciales de hojas de <i>L. alba</i> (Mill.) y <i>C. sativum</i>	21
Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de <i>L. alba</i> y <i>C. sativum</i>	30
CONCLUSIONES	46

RECOMENDACIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48
HOJA DE METADATOS	59

TABLAS

Tabla 1. Resumen de las pruebas bioquímicas utilizadas para la confirmación de las especies bacterianas	12
Tabla 2. Especies bacterianas utilizadas para medir la sensibilidad a los aceites esenciales de <i>L. alba</i> y <i>C. sativum</i>	17
Tabla 3. Porcentaje de área, índices de retención y posibles compuestos para los picos más abundantes del aceite esencial de hojas de <i>L. alba</i> (Mill.) utilizando CG/EM....	22
Tabla 4. Porcentaje de área, índices de retención y posibles compuestos para los picos más abundantes del aceite esencial de hojas de <i>C. sativum</i> utilizando CG/EM.	28
Tabla 5. Zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de hojas de <i>L. alba</i>	30
Tabla 6. Prueba <i>a posteriori</i> de Duncan para la comparación de medias de las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de <i>L. alba</i> de acuerdo a la especie bacteriana.	31
Tabla 7. Prueba <i>a posteriori</i> de Duncan para la comparación de medias de la CMI en presencia del aceite esencial de <i>L. alba</i> de acuerdo a la especie bacteriana.	36
Tabla 8. Zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de hojas de <i>C. sativum</i>	38
Tabla 9. Prueba <i>a posteriori</i> de Duncan para la comparación de medias de las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de <i>C. sativum</i> de acuerdo a la especie bacteriana.	39
Tabla 10. Prueba <i>a posteriori</i> de Duncan para la comparación de medias de la CMI en presencia del aceite esencial de <i>C. sativum</i> de acuerdo a la especie bacteriana.	433

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Planta de <i>L. alba</i> y su clasificación taxonómica.....	10
Figura 2. Planta de <i>C. sativum</i> y su clasificación taxonómica.....	10
Figura 3. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de hojas de <i>L. alba</i> frente a diferentes especies bacterianas	34
Figura 4. CMI del aceite esencial de hojas de <i>C. sativum</i> frente a diferentes especies bacterianas.....	422

RESUMEN

Los aceites esenciales (AE) son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que presentan actividad biológica. La presente investigación analizó la composición química y actividad antibacteriana de los AE de *Lippia alba* (citrona) y *Coriandrum sativum* (cilantro). Los AE se obtuvieron por hidrodestilación de las hojas para cada especie vegetal. Posteriormente, se determinó la composición química del AE por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM). La actividad antibacteriana se estimó utilizando cepas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* y *Staphylococcus aureus*, como modelos de antibiosis según método cuantitativo de Kirby-Bauer (1966). La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se estimó a través del método de macrodilución en caldo según la técnica estandarizada por el CLSI (2018). El rendimiento de los AE provenientes de las hojas frescas de *L. alba* fue 2,15% y 13 compuestos que constituyeron 76,271% del aceite. El (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (geranial) (37,646%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (neral) (19,789%), 2-metilpropanoato de (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienilo (6,249%), 6-metil-5-hepten-2-ona (4,090%), 4-[(Z)-1,5-dimetil-1,4-hexadienil]-1-metil-1-ciclohexeno (2,998%) y 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol (2,379%) representaron los compuestos volátiles más abundantes. Los AE de *C. sativum* presentaron un rendimiento de 0,83%, su análisis permitió identificar 25 compuestos, los cuales representan 99,260% del total extraído, siendo los componentes mayoritarios undecanal (46,894%), 1-heptadecanol (26,874%), tetradecanal (3,874%), (Z)-cis-9-eicosen-1-ol (3,219%), (E)-11-tetradecen-1-ol (3,008%), trans-9-tetradecenal (2,685%) y trans-2-decenal (2,212%). Los AE de *L. alba* y *C. sativum* mostraron actividad antibacteriana, observándose halos de inhibición de 14,0±0,13 a 18,1±0,14 mm y de 15,8±0,14 a 19,2±0,34 mm de diámetro, respectivamente. Mientras que la CMI de ambos AE oscilaron entre 50 µg/mL (*B. subtilis* y *S. aureus*) y 100 µg/mL (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. enteritidis*). Los AE de ambas especies demostraron actividad antibacteriana, siendo las bacterias Gram positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*) las más susceptibles. Los resultados de este estudio son prometedores y permiten vislumbrar el potencial de producción de los aceites de *L. alba* y *C. sativum* para su uso en la industria médica y/o alimentaria.

Palabras clave: aceite esencial, compuestos volátiles, actividad antibacteriana.

INTRODUCCIÓN

La falta de inocuidad de los alimentos, es un problema de salud pública cada vez más importante. En los países industrializados cada año se reportan hasta un 30% de casos de enfermedades transmitidas por alimentos. A pesar de esto, no se cuenta con datos acerca del alcance que tienen estas enfermedades en la población, ya sea porque no se reconocen, no se informan o no son investigadas, siendo sólo visibles por las autoridades al momento de tener un impacto importante en la salud de la sociedad o un impacto a nivel económico (WHO, 2015).

En la actualidad, la industria alimentaria dirige sus esfuerzos hacia el desarrollo de nuevas alternativas que permitan reducir o inhibir los patógenos transmitidos por los alimentos, bien combinado con procedimientos clásicos como el calentamiento, refrigeración o adición de compuestos antimicrobianos o aplicando nuevas tecnologías (Burt, 2004; Hernández *et al.*, 2014). El uso de productos naturales ofrece grandes ventajas en comparación con los conservantes químicos utilizados rutinariamente. Este enfoque se fundamenta en las propiedades inhibitorias de muchas especies vegetales y la creciente resistencia de los microorganismos patógenos alimentarios, en relación a los conservantes químicos y a una sociedad cada vez más consciente de los riesgos de salud relacionados con su consumo (El Adab *et al.*, 2016).

Entre los productos naturales de origen vegetal, los extractos y aceites, reciben diversas aplicaciones en las industrias de alimentos, farmacéutica, cosmética, así como en medicina alternativa y algunas terapias naturistas de salud. Particularmente, en la industria alimentaria, los aceites esenciales (AE), constituyen una forma eficiente de controlar la presencia de bacterias patógenas, aumentando la vida útil de los alimentos procesados (Jones, 1996). Los aceites esenciales, son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, los cuales contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas. Se han descrito más de 3000 tipos de aceites esenciales, de los cuales un 30% ha sido comercializado

aprovechando su actividad biológica, en particular antibacteriana, antifúngica y propiedades antioxidantes (Bounatirou *et al.*, 2007; Bakkali *et al.*, 2008).

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios producidos principalmente por plantas aromáticas, que son una mezcla de hidrocarburos saturados e insaturados, alcoholes, aldehídos, ésteres, éteres, cetonas, fenoles, terpenos y otros derivados (Babar *et al.*, 2015). Los metabolitos secundarios juegan un papel esencial en los sistemas de defensa química de las plantas, y es factible que su aparición responda a sus interacciones con los depredadores durante millones de años de coevolución. La síntesis de los metabolitos secundarios depende de la etapa de desarrollo de la planta y sus niveles se incrementan como parte de la respuesta al estrés abiótico o biótico; por lo tanto, estos compuestos manifiestan propiedades biocidas contra microorganismos patógenos, repelen plagas, constituyen mecanismos de defensa contra condiciones abióticas (exposición a radiaciones UV-B, déficit de agua) y, además pueden facilitar la interacción de las plantas con otros organismos, por ejemplo, atracción de polinizadores (Bassolé y Juliani, 2012; Sierra *et al.*, 2018).

Los aceites esenciales representan 3% de los metabolitos secundarios conocidos, y pueden ser sintetizados en diversos órganos de las plantas; es decir, en las yemas, flores, hojas, tallos, semillas, frutos, raíces o en la corteza, y ser almacenados en las células secretoras, cavidades, canales, células epidérmicas o tricomas glandulares (Bakkali *et al.*, 2008). La actividad biológica de los aceites esenciales depende de su composición química, que está determinada por el genotipo de la planta y ésta, a su vez, es influenciada por factores como el origen geográfico, las condiciones ambientales y agronómicas (Rota *et al.*, 2004).

En líneas generales, los aceites esenciales pueden actuar sobre diferentes microorganismos patógenos, pero en el caso particular de las bacterias, tales compuestos pueden alterar la membrana celular, modificando la permeabilidad y así la entrada de sustancias no esenciales o tóxicas y la fuga de componentes intracelulares vitales, así como también deteriorar el sistema enzimático y de respiración celular (Moreira *et al.*, 2005). Este modo de acción de los aceites

esenciales se encuentra relacionado con la naturaleza hidrofóbica de sus componentes, lo cual facilita su penetración a través de la membrana lipídica de la célula, ocasionando perturbaciones en sus diferentes estructuras, que eventualmente llevan a la muerte de las células bacterianas (Chouhan *et al.*, 2017).

En general, los aceites esenciales se originan de varias familias de plantas aromáticas, como las familias Asteraceae, Apiaceae (Umbelliferae) y Verbenaceae. Varias especies de la familia Verbenaceae han sido utilizadas desde la antigüedad como plantas ornamentales y medicinales, sus aceites esenciales han mostrado propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas contra bacterias y hongos (Zapata *et al.*, 2014; Pérez *et al.*, 2018). *Lippia alba* (Mill.) NE Brown, conocida típicamente como citrona, es una de las especies más representativas de la familia Verbenaceae; es un arbusto que puede alcanzar hasta 1,7 metros de altura, presenta hojas membranosas, pecioladas y su extremidad muestra formas variables con un ápice puntiagudo con inflorescencia axilar solitaria o rara vez en pares, flores pequeñas, de color rosado, lila a violeta y con un fruto pequeño, seco, incluido en un cáliz (Gupta, 1995; Ombito, *et al.*, 2014). Esta especie es originaria de América del Sur y sus atributos medicinales han sido reconocidos desde 1882. En la medicina tradicional, se le atribuyen efectos sedantes, antihipertensivos, antiespasmódicos, antiinflamatorios, así mismo mejora los problemas digestivos y respiratorios (Hennebelle *et al.*, 2008). Con respecto a los aceites esenciales provenientes de *L. alba*, estos son utilizados como analgésico, antiinflamatorio, antipirético, sedante, antidiarreico y repelente, también se les ha comprobado actividad contra bacterias, virus, hongos y protozoarios (Mamun-Or-Rashid *et al.*, 2013).

Por otra parte, los representantes de la Familia Apiaceae han sido comúnmente utilizados como alimento, agente aromatizante y medicinal, ya que, muchas de sus especies son fuentes de fitoquímicos con propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias (Khalil *et al.*, 2018). Estas plantas producen aceites esenciales, los cuales se liberan en una cantidad relativamente alta con cualidades antimicrobianas (Vieira *et al.*, 2018). Dentro de esta Familia se encuentra *Coriandrum sativum*,

conocida comúnmente como cilantro. Esta planta ha sido cultivada desde hace 5000 años A.C y aunque no existe un consenso acerca de su origen, se debate que fue en África o al sur de Europa, lo cierto es que hoy en día se cultiva y comercializa en todo el mundo (Mejía *et al.*, 2014). El cilantro es una pequeña planta anual que puede alcanzar hasta 0,6 m de altura, las hojas son lanceoladas y glabras en ambas superficies; las flores nacen en pequeñas umbelas, blancas o rosa claro, asimétricas (Mandal y Mandal, 2015). Las hojas y semillas se han venido utilizando como condimento y tradicionalmente como hierba medicinal, dado que se le atribuyen efectos antiinflamatorios, diuréticos, analgésicos, antihipertensivos, reductor del colesterol y estimulante digestivo. Además, se ha reportado que sus aceites esenciales poseen actividad antibacteriana, antifúngica, antioxidante y un efecto hepatoprotector (Freires *et al.*, 2015; Rezaei *et al.*, 2016).

En cuanto a la composición química del aceite esencial de *L. alba*, es oportuno señalar que corresponde a mono y sesquiterpenos; sin embargo, Hennebelle *et al.* (2006), sugirieron que este aceite está constituido por siete quimiotipos, donde los aceites que pertenecen al quimiotipo I, poseen citral ((2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal y (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal), linalool (3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol) y β -cariofileno como sus principales componentes (cuatro subtipos dentro de este quimiotipo), el quimiotipo II posee tagetenona; el quimiotipo III está constituido por limoneno (4-isopropenil-1-metilciclohexeno) con una cantidad variable de carvona o cetonas monoterpénicas relacionadas (dihidrocarvona, piperitona, piperitenona) en lugar de carvona (dos subtipos); quimiotipo IV (mirceno), V (γ -terpineno), VI (alcanfor-1,8-cineol) y VII (estragol). Mamun-Or-Rashid *et al.* (2013), indicaron la presencia de combinaciones tales como: citral-mirceno, citral-limoneno, citral- β -cariofileno, citral-germacreno-D, carvona-limoneno, limoneno-piperitona, y biciclosesquifelandreno.

Ahora bien, análisis previos efectuados en el aceite esencial de *C. sativum*, señalan que contiene principalmente decanal, *trans*-2-decenal, 2-decen-1-ol, 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol, 4-isopropenil-1-metilciclohexeno, α -pineno, canfeno,

acetato de geranilo, geraniol, terpin-4-ol, α -terpineol, mirceno y alcanfor (Telci *et al.*, 2006; Freires *et al.*, 2015; Mandal y Mandal, 2015; De Melo *et al.*, 2019). Los componentes de los aceites esenciales para ambas especies, varían en función de factores como la edad de la planta, su estructura genética, estación del año, clima, prácticas agrícolas y parte de la planta (hojas, flores, semillas, raíces, tallo o corteza) de la que se haya obtenido (Mandal y Mandal, 2015).

Numerosos estudios sobre la acción antimicrobiana de los aceites esenciales se han enfocado en su actividad antibacteriana, señalando que las bacterias Gram negativas suelen ser menos susceptibles debido a la complejidad de su membrana celular de doble capa en comparación con la membrana única de las bacterias Gram positivas (Hogg, 2005). La naturaleza de la envoltura celular de las bacterias Gram negativas le permite actuar como una barrera de permeabilidad para protegerse de la entrada de macromoléculas y compuestos hidrófobos; los cuales forman parte integral de los aceites esenciales (Nikaido, 2003).

El efecto de los aceites esenciales sobre diferentes tipos de bacterias, en especial sobre aquellas que son potencialmente patógenas y que, por lo tanto, podrían acarrear problemas sanitarios. La especie Gram negativa, *Escherichia coli*, que por su alta presencia en el intestino se utiliza como indicador para detectar y medir la contaminación fecal en el agua y los alimentos (FAO, 2011). Asimismo, *Salmonella* spp., perteneciente a la Familia Enterobacteriaceae, es la especie bacteriana responsable del mayor número de toxiinfecciones alimentarias, caracterizándose por infecciones localizadas en el tubo digestivo también denominadas enteritis febriles, tipo gastroenteritis o enterocolitis, que pueden ser producidas por la mayoría de serotipos. La transmisión de este microorganismo puede darse a través de diversos alimentos, como productos cárnicos, aves y subproductos, huevos, leche y productos lácteos (Rincón *et al.*, 2011).

Del mismo modo, *Pseudomonas aeruginosa*, es una bacteria Gram negativa, considerada un patógeno ubicuo, oportunista y bastante persistente en el medio ambiente. Este patógeno puede llegar a persistir de manera eficaz en el agua y en el

suelo viviendo con un requerimiento nutricional mínimo, pudiendo crecer a temperaturas entre 20 y 43 °C (Paz *et al.*, 2019). Este microorganismo representa un problema para la industria alimentaria, dado su capacidad de descomponer los alimentos refrigerados, al mantener un metabolismo basal en estas condiciones y producir enzimas hidrolíticas (Soberón y Palmeros, 1994).

Con respecto a las bacterias Gram positivas, *Bacillus subtilis*, es un anaerobio facultativo, móvil (flagelos peritricos), con crecimiento en amplios rangos de temperatura (4 °C a 48 °C), pH (4,9 a 9,3) y altas concentraciones de cloruro de sodio (7%) en el medio. (Carlin *et al.*, 2010). Además, posee la capacidad de formar esporas que son resistentes a bajas condiciones de humedad y a tratamientos térmicos como la pasteurización o cocción de alimentos, lo que constituye un peligro potencial para la salud humana (Cortés *et al.*, 2017). Otro representante de las bacterias Gram positivas es *Staphylococcus aureus*, este es un coco inmóvil que se agrupa en forma de racimos de uvas, anaerobio facultativo y con actividad catalasa y coagulasa, que lo convierte en una especie agresiva para el hospedero (Alarcón *et al.*, 2017). Esta especie produce proteínas de bajo peso molecular, denominadas enterotoxinas estafilocócicas que poseen termoresistencia y la convierten en la causa principal de su implicación en intoxicaciones alimentarias (Zendejas, *et al.*, 2014).

Las características bacterianas antes descritas demuestran el potencial efecto patógeno para la salud de las personas, por lo que resulta vital conocer una alternativa natural para reducir o evitar el crecimiento de estos microorganismos. Investigaciones recientes coinciden al señalar que el aceite esencial de las hojas de *L. alba* ha mostrado actividad antimicrobiana sobre un amplio espectro de bacterias que incluyen a *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli* y *P. aeruginosa* (Linde *et al.*, 2016; Ortega y Tofiño, 2019; Acero *et al.*, 2019). En el caso particular del aceite esencial proveniente de las hojas y semillas de *Coriandrum sativum* (cilantro), diversos autores han mencionado su

capacidad de inhibición de diferentes especies bacterianas, lo cual incluye a *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *E. coli*, *Salmonella enterica*, *Vibrio cholerae*, *Enterococcus faecalis* y *Bacillus cereus*, aunque los resultados difieren en los niveles de actividades sobre cada una de ellas (Silva *et al.*, 2011; Rezaei *et al.*, 2016; Yadav y Prabha, 2017; De Melo *et al.*, 2019).

A pesar de los conocimientos que se han adquirido en otros países sobre la composición química y la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de estas dos especies de plantas (*L. alba* y *C. sativum*), en Venezuela, son escasas las investigaciones relacionadas con este tema. Hasta el presente, no existen reportes sobre trabajos relacionados con el aceite esencial de *C. sativum*, mientras que en el caso del aceite esencial de *L. alba*, se han efectuado diversos estudios sobre su composición química. Aular *et al.*, (2016), identificaron 34 constituyentes en el aceite esencial de *L. alba* originaria del estado Carabobo, con un predominio de (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (45,30%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (30,23%), β -Farnesol (7,78%), cariofileno (2,85%), azuleno (2,52%) y β -mirceno (2,38%) y corroboraron su toxicidad en ratones expuestos a dosis de 900 mg/Kg del aceite esencial durante 28 días, evidenciándose signos de daño neurológico y motor moderado. Por su parte, González *et al.*, (2019), reportaron que los aceites esenciales de *L. alba* colectadas en diferentes zonas geográficas del estado Táchira, pertenecían a los quimiotipos I y III, con alta concentración de citral (52,4%), y L-carvona (40,82%), respectivamente. La actividad antibacteriana fue reportada para el aceite esencial de la especie relacionada, *Lippia origanoides*. Este aceite esencial demostró actividad antibacteriana; siendo la bacteria Gram positiva, *S. aureus*, la que mostró mayor sensibilidad al aceite esencial, con un CMI de $131,25 \pm 61,87$ $\mu\text{g/mL}$, mientras que la bacteria más resistente fue *P. aeruginosa*, con un CMI de 4800 ± 2262 $\mu\text{g/mL}$ (Ceballos, 2015). En 2015, se realizó un ensayo previo a esta investigación, donde se caracterizó químicamente el aceite esencial de hojas de *L. alba*, el cual mostró una alta concentración de (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (32,85%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (17,62%) y 6-metil-5-hepten-2-ona (5,36%). Además, se determinó su

actividad antibacteriana a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$, la cual produjo una inhibición leve del crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas. A partir de este resultado preliminar, se estableció una menor concentración del aceite esencial (50 $\mu\text{g/mL}$), para determinar la sensibilidad de las cepas bacterianas en este estudio (Rivas, 2015).

Es fundamental conocer la naturaleza química de los aceites esenciales de *L. alba* y *C. sativum* recolectadas en el oriente venezolano, específicamente en Maturín, estado Monagas (Venezuela), considerando que su composición química puede variar de acuerdo a las condiciones ambientales de la zona donde se cultiven estas especies y que pueden incidir en su bioactividad. Estos conocimientos, en conjunto con estudios de actividad antibacteriana, son claves al momento de vislumbrar el potencial de estos aceites esenciales como antibacterianos, constituyendo un aporte importante para el conocimiento científico de los quimiotipos de estas especies de plantas presentes en el oriente venezolano. En tal sentido, se analizó la composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *L. alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae) y *C. sativum* (Apiaceae).

METODOLOGÍA

Material vegetal

Las muestras de plantas de *L. alba* (citrona) y *C. sativum* (cilantro) fueron adquiridas en septiembre de 2018 en el Mercado Municipal de la ciudad de Maturín (estado Monagas, Venezuela) y transportadas al Laboratorio de Química Ambiental y Computacional del Núcleo Monagas de la Universidad de Oriente, Venezuela. El procesamiento de la planta consistió únicamente en la selección manual de las hojas de cada planta que se consideraban sanas, descartando aquellas hojas con daños o síntomas de enfermedades y se almacenaron por un periodo corto (1 h máximo) a temperatura de 4 °C. En las figuras 1 y 2 se muestran las plantas utilizadas para obtener los aceites esenciales y su clasificación taxonómica.

Extracción del Aceite Esencial

Se extrajeron los aceites esenciales de las partes aéreas (hojas) de *L. alba* (citrona) y *C. sativum* (cilantro). Se procedió a realizar una hidrodestilación de cada especie vegetal empleando la trampa de Clevenger; para ello, se colocaron 200 gramos de las hojas frescas de la planta en 600 mL de agua destilada y se calentó durante 6 horas en un balón de vidrio de 2 litros. Seguidamente, se separó el aceite de la fase acuosa, mediante extracción con hexano (grado HPLC), utilizando un embudo de decantación. En cada caso, la fase orgánica de la extracción, se secó con sulfato de sodio anhidro. Finalmente, se evaporó el solvente a presión reducida en un rotaevaporador y se obtuvieron los aceites esenciales de cada una de las especies de plantas estudiadas. Cada aceite se almacenó en un frasco de color ámbar y se guardó en la oscuridad bajo refrigeración a 4 °C (Tohidpour *et al.*, 2010).

Reino: Plantae
 División: Tracheophyta
 Subdivisión: Spermatophytina
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Lamiales
 Familia: Verbenaceae
 Género: *Lippia*
 Especie: *Lippia alba* (Mill.)



Vit *et al.*, (2002)

Figura 1. Planta de *L. alba* y su clasificación taxonómica

Reino: Plantae
 División: Tracheophyta
 Subdivisión: Spermatophytina
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Apiales
 Familia: Apiaceae
 Género: *Coriandrum*
 Especie: *Coriandrum sativum* L.



Diederichsen (1996)

Planta de *C. sativum* y su clasificación taxonómica

Figura 2.

Análisis Cromatográfico

Se llevó a cabo cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM), en un cromatógrafo de gases HP 6890 acoplado a un detector de masas HP 5973 (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, CA, USA) (EI, 70 eV). Se incorporó una columna capilar DB-5 de 30 m x 0,25 mm. (d.i.) x 0,25 µm de espesor de capa

(d_f). Se usó un volumen de inyección de 1 µL, tiempo de Split 0,50 min., bajo las siguientes condiciones de operación: temperatura inyector 250 °C; temperatura del detector 250 °C; gas de arrastre Helio a 1 mL/min., el voltaje de ionización 70 eV. Programa de temperatura: inicial de 50 °C mantenida por 5 minutos, luego se programó un incremento de 4 °C/min., hasta 250 °C. Los datos se procesaron con el software MSD ChemStation, versión E.01.00.237 (Agilent Technologies, Inc., USA). Los espectros de masas obtenidos se compararon con los almacenados en la base de datos NIST 02 (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library) y con los índices de retención de Kovats (IK), lo cual permitió identificar a los compuestos presentes en la muestra del aceite esencial. Los índices de Kovats se determinaron utilizando un patrón con una serie homóloga de alcanos lineales saturados (C₆-C₄₄) (Davies, 1990; Adams, 2007).

Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *L. alba* y *C. sativum*

Reactivación de cepas

La actividad antibacteriana se determinó utilizando cepas certificadas pertenecientes al Centro Venezolano de Colección de Microorganismos de *B. subtilis* (CVCM438), *S. aureus* (CVCM48), *P. aeruginosa* (CVCM625), *E. coli* (CVCM39) y *S. enteritidis* (CVCM497) (Tabla 1), existentes en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Núcleo Monagas de la Universidad de Oriente, Venezuela, lugar donde se realizaron los ensayos bacterianos. Estas cepas fueron seleccionadas porque son patógenos clínicamente importantes.

Las cepas de las diferentes especies bacterianas que se utilizaron en los ensayos, se encontraban almacenadas en agar conservación y refrigeradas a una temperatura de 4°C. Para su reactivación, se procedió a tomar una alícuota de cada cepa y se sembraron en caldo infusión cerebro corazón (BHI) (Himedia), incubándose durante 12 horas a 37°C. Transcurrido este tiempo, se procedió a confirmar la pureza

e identificación bacteriana con las pruebas bioquímicas correspondientes para cada especie (Tabla 1), según Koneman *et al.*, (2003) y MacFaddin (2003).

Tabla 1. Resumen de las pruebas bioquímicas utilizadas para la confirmación de las especies bacterianas

Especie bacteriana	Pruebas bioquímicas	Resultados
<i>B. subtilis</i> (CVCM438)	Catalasa	+
	Motilidad	+
	Indol	-
	Reducción de nitrato	+
<i>S. aureus</i> (CVCM48)	Catalasa	+
	Prueba de la coagulasa	+
	Fermentación del manitol	+
	Prueba de la Desoxirribonucleasa (DNasa)	+
<i>P. aeruginosa</i> (CVCM625)	Prueba de la citocromo oxidasa	+
	Motilidad	+
	Prueba oxidación-fermentación de glucosa	+
	Prueba oxidación-fermentación de lactosa	-
<i>E. coli</i> (CVCM39)	Prueba de la citocromo oxidasa	-
	Prueba del rojo de metilo	+
	Prueba de Voges-Proskauer	-
	Utilización de citrato	-
	Motilidad	+
	Producción de indol	+
	Descarboxilación de ornitina	+
	Fermentación de lactosa	+
	Fermentación de glucosa	+
	Producción de sulfuro de hidrógeno	-
Producción de gas	+	
<i>S. enteritidis</i> (CVCM497)	Prueba de la citocromo oxidasa	-
	Prueba del rojo de metilo	+
	Prueba de Voges-Proskauer	+
	Utilización de citrato	+
	Motilidad	+
	Producción de indol	-
	Descarboxilación de ornitina	+
	Fermentación de lactosa	-
	Fermentación de glucosa	+
	Producción de sulfuro de hidrógeno	+
Producción de gas	-	

Pruebas bioquímicas utilizadas para la confirmación de las especies bacterianas

Catalasa

Con un palillo de madera se transfirió parte de una colonia a la superficie de un portaobjetos de vidrio y se le agregó una gota de peróxido de hidrógeno al 3%. La aparición rápida y sostenida de burbujas o de efervescencia constituyó una reacción positiva, indicando la presencia de la enzima catalasa que descompone el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno.

Motilidad, producción de indol y ornitina descarboxilasa

Tubos con agar MIO (motilidad, indol y ornitina) (Britania), se inocularon por punción y se incubaron a 35° C por 24 horas. La motilidad se evidenció por la presencia de turbidez en el medio alrededor de la línea de punción; la producción de indol se determinó por la formación de un anillo rojo en la superficie del medio al agregar el reactivo de Kovac's y la descarboxilación de la ornitina se tomó como positiva cuando el fondo del medio se tornó de color púrpura.

Reducción de nitratos

Se inoculó el medio para nitratos (Merck), con la cepa bacteriana y se incubó a 35 °C durante 18 a 24 horas. Finalizada la incubación, se le agregó al medio 1 mL del reactivo A y 1 mL del reactivo B. El desarrollo de color rojo dentro de los 30 segundos después de agregar los reactivos de prueba, indicó la presencia de nitritos y representó una reacción positiva para reducción de nitratos.

Producción de la enzima coagulasa

Se mezclaron 0,5 mL del inóculo de la cepa bacteriana, en tubos con 0,5 mL de plasma de conejo con el ácido etildiaminotetraacético (EDTA) y se incubaron a 37 °C en baño de María, durante 4 horas.

Para verificar la formación de coágulo, se observaron los tubos cada hora, hasta completar un periodo de 4 horas. Los tubos que son negativos después de ese tiempo, se incubaron a temperatura ambiente durante la noche y se inspeccionaron tras 18 horas. La formación de coágulos indicó un resultado positivo de la prueba.

Producción de la Desoxirribonucleasa (ADNasa)

Se sembró por estría la cepa en estudio en el agar DNasa (Britania), el cual es un medio que contiene, entre otros compuestos, ácido desoxirribonucleico (ADN). Se incubó por 24 horas a 35 °C, luego se acidificó el medio con unas gotas de ácido clorhídrico 1 N, con lo cual se logró precipitar el ADN, opalesciendo el medio alrededor de la colonia. La aparición de halos transparentes alrededor del área de crecimiento se consideró como un resultado positivo, ya que estas corresponden a zonas de hidrólisis del ADN. La prueba es considerada negativa en caso de que los halos característicos no estén presentes.

Fermentación del manitol

Se realizó la siembra de la cepa en la superficie de placas con agar manitol salado (Merck). Se incubaron a 37°C en aerobiosis por 24 horas. Un resultado positivo produjo colonias de color amarillo y un medio circundante de color amarillo. Un resultado negativo si el medio se tornaba de color rojizo y crecían colonias de color rosado.

Rojo de metilo

Se sembró el caldo MR-VP (Britania), con un cultivo puro del microorganismo en estudio y se incubó a 35 °C durante 48 horas. Finalizada la incubación, se agregaron 5 gotas del reactivo de rojo de fenol directamente al caldo. El desarrollo de color rojo estable en la superficie del medio indica la suficiente

producción de ácido como para disminuir el pH a 4,4 y constituye una prueba positiva.

Citocromo oxidasa

Se añadieron unas gotas del reactivo tetrametil p -fenilendiamina al 1% a una tira de papel de filtro, y sobre éste se colocó, con la ayuda de un palillo de madera, una colonia del microorganismo a ser identificado. Las colonias bacterianas con actividad de citocromo oxidasa desarrollaron un color azul oscuro en el sitio de inoculación en el término de 10 segundos.

Prueba de Voges-Proskauer

Se sembró un tubo de caldo MR-VP (Britania), con un cultivo puro del microorganismo por probar. Se incubó a 35 °C durante 24 horas. Posteriormente se le agregaron 0,6 ml de α -naftol al 5% y 0,2 ml de KOH al 40%. Se homogeneizó y se observó luego de 15 minutos aproximadamente. Tras ese tiempo, el desarrollo de color rojo indicó la presencia de diacetilo, el producto de oxidación de la acetoína, constituyendo una prueba positiva.

Utilización del citrato

Se tomó una colonia bien aislada y se sembró en forma de estría única en el pico de flauta (agar inclinado) del tubo de agar citrato (Britania). El tubo se incubó a 35 °C durante 24 a 48 horas. La prueba positiva se evidenció por la producción de color azul oscuro en el término de ese tiempo, lo que indicó que el microorganismo utilizó el citrato contenido en el medio, con formación de productos alcalinos.

Prueba de oxidación-fermentación (Hugh y Leifson)

Se inoculó la cepa a identificar en dos tubos con el medio basal OF (Hugh y Leifson) (Britania), con el azúcar a probar (glucosa o lactosa). Tras la inoculación, se

agregó una capa de 4 a 5 mm de parafina líquida estéril, a uno de los tubos. Ambos tubos se incubaron a 35 °C durante 48 horas o más, hasta 7 días con las tapas sueltas.

La producción de ácido se detectó en el medio por la aparición de color amarillo. Mediante esta prueba se determinó si la utilización de los hidratos de carbono por parte de un microorganismo se realizó por vía oxidativa (proceso aeróbico, presencia de oxígeno) o por vía fermentativa (proceso anaeróbico, ausencia de oxígeno). En este medio, se sembró la cepa en presencia de dos azúcares, glucosa y lactosa.

Fermentación de azúcares

Se realizó en tubos con agar hierro de Kligler (Britania) solidificado en forma de bisel. Se sembró por punción y estría con una aguja de inoculación y los tubos se incubaron a 35 °C durante 24 horas. Con esta prueba se evaluó la capacidad que presentan ciertas bacterias para utilizar por la vía fermentativa, algunos carbohidratos como la lactosa y la glucosa, además de la formación de ácido sulfhídrico y gas carbónico. La interpretación se realizó de la siguiente manera: un fondo ácido (amarillo) y pico alcalino (rojo) se traducirá en fermentación de glucosa y no de lactosa. Todo el medio ácido: fermentación de glucosa y lactosa. Un ennegrecimiento del medio indicó la producción de ácido sulfhídrico y burbujas de aire en el medio indicó la producción de gas.

Preparación del inóculo bacteriano

Una vez confirmadas bioquímicamente las especies bacterianas a utilizar para los ensayos microbiológicos (Tabla 2), se realizó la preparación de los inóculos bacterianos siguiendo la metodología de Bäuer *et al.*, (1966). Las cepas a ensayar se sembraron en agar tripticasa de soya (Merck), incubándose 18 horas a 35 ± 1 °C. Transcurrido este tiempo, se tomaron 4-5 colonias y se inocularon en un tubo con 5 mL de caldo Müller Hinton (Himedia). Este cultivo se incubó a 35 °C hasta el

momento que se apreció una turbidez ligeramente visible, la cual osciló entre 2 a 5 horas, aproximadamente. Posteriormente, se ajustó la turbidez con ayuda de solución salina estéril, comparándolo con el patrón de turbidez de Mac Farland N° 0,5 a fin de obtener suspensiones microbianas de concentración conocida (1×10^8 UFC/mL).

Tabla 2. Especies bacterianas utilizadas para medir la sensibilidad a los aceites esenciales de *L. alba* y *C. sativum*

	Especie bacteriana
Gram positiva	<i>B. subtilis</i> (CVCM438)
	<i>S. aureus</i> (CVCM48)
Gram negativa	<i>P. aeruginosa</i> (CVCM625)
	<i>E. coli</i> (CVCM39)
	<i>S. enteritidis</i> (CVCM497)

Sensibilidad de diferentes especies bacterianas a los aceites esenciales de *L. alba* y *C. sativum*

La sensibilidad de las cepas bacterianas a los aceites esenciales se determinó por el método de difusión en agar descrito por Baüer *et al.*, (1966), modificado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018) y algunas modificaciones según lo indicado por Zaika (1988) y Ríos *et al.*, (1988).

La dilución de los extractos se realizó en Dimetilsulfóxido (DMSO, Himedia), esto con el fin de obtener una concentración de 50 µg/mL para la realización del ensayo. El aceite esencial de *L. alba* presentó una densidad de 0,936 g/mL, mientras que la densidad del aceite esencial de *C. sativum* fue de 0,868 g/mL.

Para la dilución de cada extracto (50 µg/mL), se utilizó un balón de vidrio aforado de 10 mL. Se colocaron 0,5 µL del aceite esencial de *L. alba* y se enrasó a 10 mL con DMSO. En el caso de *C. sativum*, se tomaron 0,6 µL del aceite esencial y se enrasó a 10 mL con DMSO.

Las suspensiones bacterianas estandarizadas se sembraron en placas con agar Müeller -Hinton (Oxoid). Este proceso se realizó con un hisopo estéril, esto permitió inocular la cepa de forma homogénea sobre toda la superficie de la placa. Una vez seca la superficie del agar, se procedieron a colocar con pinzas, discos de papel filtro esterilizado (Whatman N° 5) (Zaika, 1988), impregnados con el aceite esencial (50 µg/mL). Asimismo, se emplearon los discos de antibióticos (Himedia); gentamicina (10 µg), amikacina (30 µg) y ciprofloxacina (5 µg), como controles positivos, para medir la sensibilidad de los microorganismos con respecto a los antibióticos comerciales. Se utilizó un disco impregnado con DMSO, como control negativo; para descartar la posible interacción del disolvente en la actividad antibacteriana observada. En ensayos previos, se evidenció que la presencia del DMSO, no afectaba el crecimiento de las diferentes especies bacterianas, utilizadas como modelo de antibiosis.

Las placas se mantuvieron a temperatura ambiente por un mínimo de 30 minutos para permitir la dispersión del aceite esencial en el agar (Ríos *et al.*, 1988) y luego se incubaron durante 24 horas a 37 °C. La acción antibacteriana contra cada especie se cuantificó midiendo el diámetro (mm) de los halos de inhibición alrededor de los discos. Este ensayo se llevó a cabo por triplicado para cada cepa bacteriana estudiada.

Detección de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales sobre diferentes especies bacterianas.

La CMI, se estimó por el método de macrodilución en caldo según la técnica estandarizada por el CLSI (2018). Esta metodología se aplicó para cada aceite esencial (*L. alba* y *C. sativum*).

Cada aceite esencial se disolvió en DMSO (10% del volumen final) y este se diluyó con caldo Mueller Hinton (Himedia) a una concentración de 800 µg/mL. El

volumen final fue de 2 mL y correspondió al primer tubo de la serie de diluciones, con la concentración más alta.

Para cada combinación de aceite esencial/especie bacteriana, se utilizó una batería de 5 tubos, correspondientes a cinco diluciones y adicionalmente, un tubo control.

Inicialmente, se colocó 1 mL de caldo Mueller Hinton (Himedia) en los tubos, a excepción del primer tubo. A continuación, con una pipeta estéril se transfirió 1 mL del contenido del primer tubo al segundo. Tras homogeneizar la mezcla con un agitador vórtex, se tomó 1 mL de la solución y se agregó 1 mL al tercer tubo. El proceso continuó hasta el penúltimo tubo (tubo número 5), al que se le eliminó 1 mL. Para este proceso, se deben utilizar pipetas estériles diferentes. El último tubo no recibió aceite esencial y correspondió al control de crecimiento.

Posteriormente, se agregó 1 mL de la suspensión bacteriana estandarizada (10^6 UFC/mL) a cada uno de los tubos y se homogenizó la mezcla. Esto produjo la dilución 1:2 final tanto del inóculo, como del aceite esencial. El volumen final en cada tubo, fue de 2 mL. Las concentraciones finales del aceite esencial correspondieron a 400, 200, 100, 50 y 25 $\mu\text{g/mL}$. Los tubos se incubaron a 35 ± 2 °C durante 24 horas. Este procedimiento se realizó por triplicado para cada cepa bacteriana estudiada. Es importante mencionar, que no deben transcurrir más de 15 minutos entre la preparación de la suspensión bacteriana estandarizada y su siembra en los tubos.

Después del tiempo de incubación, el crecimiento bacteriano se evidenció por formación de turbidez en el medio. Para descartar que la turbidez se relacionara con la presencia del aceite esencial, se inoculó 0,1 mL de muestra de cada tubo, en placas de Petri, agregando agar Plate Count (Merck) fundido a 45 °C, mezclando con cuidado y dejando solidificar. Estas placas se incubaron durante 24 h a 35 ± 1 °C, tiempo tras el cual se verificó si hubo desarrollo de colonias bacterianas en el agar.

La CMI se definió como la concentración más baja del antibacteriano, en este caso el aceite esencial, que inhibió el crecimiento visible de la bacteria después de su incubación (Andrews, 2001).

Análisis estadísticos

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, verificando previamente los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. Por la naturaleza de los datos, éstos fueron transformados usando logaritmo. Este análisis se aplicó para cada uno de los aceites esenciales ensayados, con la finalidad de determinar si existieron diferencias significativas en las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano de acuerdo a la especie bacteriana y en la CMI con respecto a la especie bacteriana. En aquellos casos donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$), estas se demostraron mediante el uso de la *prueba a posteriori* de Duncan (Sokal y Rohlf, 1995). Estas pruebas estadísticas se efectuaron con el programa Statgraphics 18.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de los aceites esenciales de hojas de *L. alba* (Mill.) y *C. sativum*

El rendimiento del aceite esencial proveniente de las hojas frescas de *L. alba* (Mill.) fue del 2,15%. Este porcentaje fue superior al rendimiento (1,60%) reportado para los aceites esenciales de esta misma especie en Brasil por Conde *et al.* (2011). El porcentaje de rendimiento del aceite esencial de *L. alba* quimiotipo citral y quimiotipo carvona, ambos originarios de Guatemala, fueron de 0,87 y 1,05%, respectivamente (Aldana y Cruz, 2017). En general, el mayor rendimiento del aceite esencial puede estar relacionado con el uso de hojas frescas, favoreciendo el rendimiento final, en comparación con las sometidas a secado, dado que este proceso en ocasiones puede causar la pérdida de compuestos volátiles importantes (Mejía *et al.*, 2007; Medina *et al.*, 2011).

En la tabla 3, se muestran los datos de la composición química del aceite esencial de *L. alba* (Mill.), en donde se visualizaron 13 compuestos que constituyen 76,271% del aceite. Los picos mayoritarios corresponden al (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (37,646%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (19,789%), 2-metilpropanoato de (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienilo (6,249%), 6-metil-5-hepten-2-ona (4,090%), 4-[(Z)-1,5-dimetil-1,4-hexadienil]-1-metil-1-ciclohexeno (2,998%) y el 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol (2,379%).

En primer lugar, se debe considerar lo señalado por Hennebelle *et al.* (2006), quienes, basándose en la composición y las vías de biosíntesis de los diferentes aceites esenciales propusieron 7 quimiotipos: I (citral, linalool y β -cariofileno), II (tagetenona), III (limoneno-carvona ó limoneno cetonas monoterpénicas), IV (mirceno), V (γ -terpineno), VI (alcanfor 1,8-cineol) y VII (estragol). Además, existen combinaciones como, citral-mirceno, citral-limoneno, citral- β -cariofileno, citral-D-germacreno, carvona-limoneno, limoneno-piperitona, y biciclosesquifelandreno

(Mamun-Or-Rashid *et al.*, 2013). A partir de esta clasificación, se infiere que la variedad estudiada pertenece al quimiotipo I, dado que posee como componente mayoritario el citral (57,435%). Este porcentaje corresponde a la suma de los isómeros (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (37,646%) y (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (19,789%). El citral, es un monoterpeno formado por la combinación de dos isómeros: (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (geranial) y (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (neral) (Tak y Isman, 2016).

Tabla 3. Porcentaje de área, índices de retención y posibles compuestos para los picos más abundantes del aceite esencial de hojas de *L. alba* (Mill.) utilizando CG/EM.

N° de Pico	% Área	Índice de Kovats	Posibles Compuestos (<i>I</i> Referencia)
1	4,090	990	6-Metil-5-hepten-2-ona (985)
2	0,154	1017	4-isopropenil-1-metilciclohexeno (1018)
3	2,379	1103	3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol (1100)
4	1,004	1171	3,7-dimetil-6-octenal(1165)
5	19,789	1293	(2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (neral) (1294)
6	37,646	1329	(2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (geranial) (1325)
7	6,249	1496	2-metilpropanoato de (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienilo (1495)
8	0,580	1511	(2E,7E)-4-isopropil-1,7-dimetilcyclodeca-2,7-dien-1-ol(1511)
9	2,998	1560	4-[(Z)-1,5-dimetil-1,4-hexadienil]-1-metil-1-ciclohexeno (1555)
10	0,110	1647	(1S,4S)-4-isopropil-1,6-dimetil-3,4,4a,7,8,8a-hexahidro-2H-naftalen-1-ol (1646)
11	0,768	1691	(2E,6E)-3,7,11-trimetildodeca-2,6,10-trien-1-ol (1697)
12	0,361	2241	(5Z,8Z,11Z,14Z)-5,8,11,14-eicosatetraenoato de metilo (2236)
13	0,143	2755	<i>cis</i> -octadec-9-enoato de bencilo (2758)

Cabe resaltar que *L. alba* es una especie que se encuentra distribuida frecuentemente en los países de Sur y Centroamérica, por lo que se han efectuado múltiples estudios relacionados con la composición química de sus aceites esenciales.

En Brasil ha sido ampliamente estudiada, reportándose el subtipo citral y el subtipo linalool, ambos pertenecientes al quimiotipo I y el quimiotipo III (carvona). En una investigación realizada por Tavares *et al.*, (2005), lograron identificar los componentes principales de los 3 quimiotipos presentes en Brasil. Constataron 29 componentes en el aceite esencial de *L. alba* quimiotipo citral, conformado básicamente por (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (33,98%) y (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (25,82%), 26 componentes en el quimiotipo carvona con carvona (52,8%) y 4-isopropenil-1-metilciclohexeno (16,98%) en mayor proporción y el quimiotipo linalool constituido por 42 compuestos, resaltando la presencia del 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol en 60,05%.

Los aceites esenciales provenientes de hojas de *L. alba* de la región norte de Brasil corresponden al quimiotipo citral, con proporciones de citral de 69,26; 62,26 y 70,6%, según lo indicado por Nogueira *et al.*, (2007), Porfirio *et al.*, (2017) y Peres *et al.*, (2018), respectivamente. Los componentes minoritarios de los aceites esenciales de citrona son más diversos a pesar de que provienen de la misma región, con β -cariofileno (7,9%), 1-octen-3-ol (6,3 %), mirceno (5,1%), β -farneseno (5,9%), (2E,7E)-4-isopropil-1,7-dimetilciclododeca-2,7-dien-1-ol (4,6%), *p*-cimeno (9,84%), 4-isopropenil-1-metilciclohexeno (7,32%), 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol (0,20%), entre otros. Los porcentajes de citral reportados en los aceites esenciales (quimiotipo I) extraídos en diferentes áreas de Brasil, son mayores a los determinados en esta investigación. A pesar de esto, la presencia de metabolitos como el citral, (2E,7E)-4-isopropil-1,7-dimetilciclododeca-2,7-dien-1-ol y 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol, aportan capacidad antibacteriana a estos aceites esenciales (Bakkali *et al.*, 2008). En la región sur de Brasil, se identificó el quimiotipo carvona, constituido principalmente por carvona (52,15%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (7,2%), (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (7,8%) y β -cariofileno (6,3%) (Nogueira *et al.*, 2007). La diversidad en la composición de los aceites esenciales de los diferentes quimiotipos de esta planta, no solo dependen de los factores ambientales, sino que también están relacionados con la

diversidad del genotipo vegetal (Tavares *et al.*, 2003).

En Colombia, los estudios sobre la composición química de los aceites esenciales de tallos y hojas de *L. alba*, han permitido identificar tres quimiotipos: citral, carvona y mixto, este último con un alto contenido de citral y carvona. En el quimiotipo citral, el (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (9-27%) y el (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (9-21%) fueron los principales metabolitos, seguidos del 4-isopropenil-1-metilciclohexeno (3-26%), geraniol (4-6%), *trans*- β -cariofileno (2-6%) y biciclosesquifelandreno (1-7%) y 6-Metil-5-hepten-2-ona (5,2%), mientras que en el quimiotipo carvona, el componente mayoritario fue la carvona (31-50,3%), seguido del 4-isopropenil-1-metilciclohexeno (25-32%), el biciclosesquifelandreno (7-10%), la piperitenona (1-6,1%) y la piperitona (1-3,1%) y el quimiotipo carvona-citral o mixto con carvona (25,3%), 4-isopropenil-1-metilciclohexeno (22,4%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (10,4%) y (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (10,4%) (Monsalve, 2007; Stashenko *at al.*, 2014). En ese país se reportan con mayor frecuencia los quimiotipos citral y carvona; con una alta proporción de (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (18,9-34,7%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (15,9-21,7%) y geraniol (10,1-11,5%) en el quimiotipo citral y con un predominio de carvona (47,9%), 4-isopropenil-1-metilciclohexeno (32,4%) y (2E,7E)-4-isopropil-1,7-dimetilciclodeca-2,7-dien-1-ol (10,5%) en el quimiotipo carvona (Delgado *et al.*, 2016; Ortega *et al.*, 2016).

En Argentina, se han realizado investigaciones sobre la naturaleza de los aceites esenciales de *L. alba*, identificado los quimiotipos citral ((2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal: 19,5% y (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal: 11,5%) y dihidrocarvona (Z-dihidrocarvona: 32,8% y E-dihidrocarvona: 37,5%) (Blanco, 2014), mientras que, en Perú y Costa Rica, los compuestos mayoritarios de este aceite fueron carvona y 4-isopropenil-1-metilciclohexeno, correspondiente al quimiotipo carvona. En Perú, este quimiotipo está constituido por carvona y 4-isopropenil-1-metilciclohexeno en 45,9% y 26,0% (Medina *et al.*, 2011; Coronel y Zeballos, 2019).

Los porcentajes de citral (*trans* y (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal) en el aceite esencial de *L. alba* aislado en Maturín (Venezuela), fueron mayores a los reportados para este quimiotipo en Colombia y Argentina; presentándose, además variación en los compuestos volátiles que se encontraban en menor concentración. Es importante señalar que, aunque la composición química de los aceites esenciales de *L. alba* está determinada en gran medida por factores genéticos, en especial, cuando se refiere a un mismo quimiotipo, también es determinante el efecto que ejerce el origen geográfico y las condiciones edafo-climáticas en esta variación, especialmente si se habla de diferentes países (Linde *et al.*, 2016).

Se ha puesto de manifiesto que los aceites esenciales, poseen componentes en concentraciones relativamente altas (20-95%) y otros en concentraciones bajas, pero todos ellos pueden actuar de manera sinérgica, potenciando su capacidad antibacteriana. Los mecanismos implicados en la actividad antibacteriana de los componentes principales de los aceites esenciales, comprenden la degradación de la membrana celular, el aumento de su permeabilidad e incluso la disminución del pH citoplasmático (Ngome *et al.*, 2018).

Estudios realizados en diferentes zonas de Venezuela, revelan que los aceites esenciales de *L. alba* son mayormente del quimiotipo I (citral) y, en menor medida, del quimiotipo III (carvona). En diferentes poblaciones del estado Carabobo (zona central del país), Aular *et al.*, (2016), aislaron (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (45,30%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (30,23%), β -Farnesol (7,78%), cariofileno (2,85%), azuleno (2,52%) y β -mirceno (2,38%) como constituyentes mayoritarios; siendo clasificado como quimiotipo I, por el predominio de (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal y (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal. Por otro lado, se lograron identificar los quimiotipos I (citral) y III (carvona), a partir de variedades de *L. alba*, provenientes de diferentes zonas del estado Táchira; cabe destacar que carvona, no había sido reportada con anterioridad. En el quimiotipo I, los compuestos mayoritarios fueron: (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (30,89%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (21,51%),

trans-geraniol (21,56%) y 6-metil-5-hepten-2-ona (7,75%), mientras que el quimiotipo III presentaba 4-isopropenil-1-metilciclohexeno (44,15%) y L-carvona (40,82%) como sus mayores constituyentes (González *et al.*, 2019).

En esta investigación, se identificó el aceite esencial de *L. alba* como quimiotipo I (cital), lo cual coincidió con los resultados obtenidos en el ensayo preliminar realizado con el aceite esencial de esta especie proveniente de Maturín (región oriental), con un predominio de (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (32,85%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (17,62%) y 6-metil-5-hepten-2-ona (5,36%) (Rivas, 2015) y con los reportes antes señalados, evidenciando que es un quimiotipo común en las regiones estudiadas en Venezuela. El porcentaje de cital (57,43%) detectado en este estudio fue menor al reportado para el quimiotipo I de la región central (75,53%) y mayor al reportado para la región occidental (52,4%) y para la región oriental (50,47%), según el ensayo previo; la proporción y variedad de estos compuestos dependen de factores tan diversos como la edad y parte de la planta, condiciones geobotánicas del medio, método de cultivo, época de recolección, método de obtención del aceite, etc. (Mejía *et al.*, 2007; Delgado *et al.*, 2016).

Las sustancias oxigenadas (monoterpenos), como el cital (*trans* y (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal), que son los constituyentes más abundantes en el aceite esencial de *L. alba* originaria de Maturín, poseen la capacidad de causar daño oxidativo al ADN bacteriano por formación de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO), lo cual pone en evidencia su potencial como antibacteriano y la importancia de conocer la naturaleza química de los aceites esenciales (Peres *et al.*, 2018).

En esta investigación también se obtuvo el aceite esencial a partir de las hojas frescas de *C. sativum* (cilantro), una especie representativa de la Familia Apiaceae; el aceite esencial presentó un rendimiento de 0,83%, el cual fue superior a lo reportado para este aceite en otros países. Freires *et al.*, (2015) y Condori (2019), estudiaron el aceite esencial de *C. sativum* en países latinoamericanos como Brasil y Perú,

indicando rendimientos de 0,29% y 0,04%; en cambio, la proporción del aceite extraído de hojas de cilantro originario de India y Egipto, fue comparativamente menor al obtenido en esta investigación, con rendimientos de 0,18 y 0,14%, respectivamente (Mandal y Mandal, 2015; Hassanen, *et al.*, 2015). En general, aunque el rendimiento del aceite esencial reportado en esta investigación es muy superior a los encontrados en otros países, éstos se encuentran dentro del rango habitual, tomando en cuenta que según Bhuiyan *et al.*, (2009), el rendimiento del aceite esencial obtenido de hojas de cilantro es menor al 1%, aunque el rendimiento del aceite extraído de sus frutos puede ubicarse entre 0,5 a 2,5%.

En la tabla 4, se muestra la composición química de los aceites esenciales de *C. sativum*, donde se observan 25 compuestos que constituyeron 99,267% del aceite. Los picos mayoritarios corresponden al undecanal (46,894%), 1-heptadecanol (26,874%), tetradecanal (3,874%), *cis*-9-eicosen-1-ol (3,219%), (E)-11-tetradecen-1-ol (3,008%), *trans*-9-tetradecenal (2,685%) y *trans*-2-decenal (2,212%). Vale la pena destacar que este aceite se caracterizó por un predominio fundamental de aldehídos (58,508%) y alcoholes (34,810%), los cuales representan 93,318% de los compuestos volátiles totales.

En la actualidad *C. sativum* es ampliamente cultivada y comercializada en todo el mundo, lo que ha promovido la realización de investigaciones relacionadas con la composición química de sus aceites esenciales. Matasyoh *et al.*, (2009) identificaron 24 componentes en el aceite esencial de *C. sativum*, originario de Kenia, en el que predominaron el 2-decenal (15,9%), decanal (14,3%), 2-decen-1-ol (14,2%), n-decanol (13,6%), 2-*E*-tridecen-1-al (6,75%), 2-*E*-dodecenal (6,23%), dodecanal (4,36%), undecanol (3,37%) y undecanal (3,23%). El aceite esencial indígena de Corea del Sur, mostró un alto porcentaje de aldehídos (42,13%) y alcoholes (39,17%), entre los que resaltaron: ciclododecanol (23,11%), tetradecanal (17,86%), 2-dodecenal (9,93%), 1-decanol (7,24%), 13-tetradecenal (6,85%), 1-dodecanol

(6,54%), dodecanal (5,16%), 1-undecanol (2,28%) y decanal (2,33%) Chung *et al.*, (2012). Mientras que, en el aceite nativo de Polonia, destacaron metabolitos como: E-2-dodecanol (17,8%), decanal (15,3%), 2-decen-1-ol (11,9%), dodecanal (4,7%), 1-decanol (4,2%), fitol (2,8%), undecanal (2,2%), tetradecanal (2,2%), E-2-undecenal (2,0%), ácido oleico (2,0%), E-2-tridecenol (1,7%), cubenol (1,5%), nonano (1,4%), tridecanal (0,6%) y *trans*-2-decenal (0,8%) (Nurzyńska, 2013).

Tabla 4. Porcentaje de área, índices de retención y posibles compuestos para los picos más abundantes del aceite esencial de hojas de *C. sativum* utilizando CG/EM.

N° de Pico	% Área	Índice de Kovats	Posibles Compuestos (<i>I</i> Referencia)
1	0,198	999	Decano (1000)
2	0,425	1008	1-iodohexano (1008)
3	0,189	1228	4,8-dimetil-1-nonanol (1229)
4	0,506	1260	2-decen-1-ol(1255)
5	2,212	1339	<i>trans</i> -2-decenal (1345)
6	46,894	1358	Undecanal (1356)
7	0,517	1399	Dodecanal (1394)
8	0,545	1427	5-tetradeceno (1423)
9	0,879	1510	Tridecanal (1505)
10	0,868	1541	(E)-3-(4-metoxifenil)-2-propenal (1536)
11	3,874	1570	Tetradecanal (1574)
12	2,685	1665	<i>trans</i> -9-tetradecenal (1667)
13	3,008	1680	(E)-11-tetradecen-1-ol (1675)
14	0,252	1708	Pentadecanal (1710)
15	0,327	1831	Hexadecanal (1828)
16	26,874	1971	1-heptadecanol (1974)
17	0,478	2171	Ácido <i>cis,cis</i> -9,12-octadecadienoico (2175)
18	3,219	2257	<i>cis</i> -9-eicosen-1-ol (2260)
19	0,175	2265	4-metildocosano (2269)
20	0,189	2288	Oleato de (Z)-4-nonadecen-1-ilo (2284)
21	0,147	2380	Heneicosanoato de metilo (2375)
22	0,359	2479	11-(1-etilpropil)heneicosano (2477)
23	1,014	2510	1-docosanol (2506)
24	1,747	2709	Heptacosano (2705)
25	1,686	2746	1,10-cicloeoicosanodiona (2741)

En Latinoamérica también se han llevado a cabo estudios sobre la naturaleza química de los aceites esenciales de las hojas de cilantro. En Brasil, Freires *et al.*, (2014), mostraron resultados similares a los encontrados en estudios realizados en otros países, identificando 12 compuestos volátiles en los que predominaron aldehídos y alcoholes, destacando el decanal (19,09%), *trans*-2-decenal (17,54%), 2-decen-1-ol (12,33%) y el ciclodecano (12,15%); sin embargo, los aceites esenciales de hojas de cilantro proveniente de Roraima, Brasil, posee un perfil constituido casi exclusivamente por aldehídos, destacando entre sus elementos volátiles el decanal (6,7%), 2-decenal (6,8%), 2-dodecanal (21,6%), tetradecenal (22,9%) y ácido palmítico (10,7%) (De Melo *et al.*, 2019).

Por otro lado, el aceite obtenido de hojas de *C. sativum* oriundo de Perú, presentó una mayor variabilidad en los componentes identificados. El aceite peruano presentó componentes volátiles como el nonil acetato (15,70%), n-decanal (15,13%), *trans*-2-octenal (13,23%), dodecanal (5,08%), undecanal (3,09%), 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol (1,58 %), *trans*-2-nonenal (1,12%), entre otros. Por lo tanto, este aceite estuvo conformado principalmente por 15,70% del éster, nonil acetato y por 29,42% de aldehídos (Condori, 2019).

La mayoría de los investigadores en el área consideran que pueden existir cambios en los tipos de compuestos volátiles presentes en los aceites esenciales extraídos de hojas de cilantro. Iqbal *et al.* (2018), señalaron que la composición de los aceites esenciales extraídos de las hojas de *C. sativum* puede ser muy variable, sobre todo en las proporciones en las que se presentan los compuestos volátiles. Estas diferencias cualitativas y cuantitativas pueden ser atribuidas a factores climáticos y ambientales, lo cual toma mayor relevancia cuando comparamos aceites esenciales provenientes de áreas geográficas tan disímiles (Yildiz, 2016).

En esta investigación se reporta, por primera vez en Venezuela, el aceite esencial de hojas de *C. sativum*, el cual posee porcentajes de aldehídos y alcoholes (93,31%) superiores a los reportados para esta especie en diferentes partes del mundo; y aunque coinciden en el tipo de metabolitos mayoritarios, existen variaciones en

cuanto a los tipos y cantidades. Estos cambios que se presentan en la composición, concentración y rendimientos del aceite esencial de cilantro, guardan relación con diversos factores como: quimiotipo, edad, origen, ontogénesis y genética de la planta, factores ambientales, de cultivo, etc. (Bhuiyan *et al.*, 2009; Türkmen *et al.*, 2016).

Una alta concentración de aldehídos y alcoholes en los aceites esenciales, tal como se ha identificado en esta investigación, juega un papel importante en la acción antibacteriana/biológica. El efecto antibacteriano puede ser atribuido a la capacidad para alterar las funciones de la pared celular de algunos constituyentes del aceite esencial, como los aldehídos. Aunque los componentes principales de los aceites esenciales son importantes para su actividad biológica, aquellos metabolitos que se encuentran en menor proporción desempeñan un papel clave, ya que pueden fortalecer la acción de los componentes mayoritarios, mediante un efecto de tipo aditivo (Perricone *et al.*, 2015).

Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *L. alba* y *C. sativum*

La tabla 5 muestra los resultados de la actividad antibacteriana del aceite esencial proveniente de *L. alba* (Mill.) sobre las diferentes especies bacterianas ensayadas, como se puede apreciar, los halos de inhibición oscilan entre $14,0 \pm 0,13$ y $18,1 \pm 0,14$ mm de diámetro. Las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano para los diferentes antibióticos analizados fueron mayores a los desarrollados con el aceite esencial de *L. alba* ($18,0 \pm 0,12$ - $30,0 \pm 0,04$).

Tabla 5. Zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de hojas de *L. alba*.

Cepa Bacteriana	Zona de Inhibición (mm)*			
	Aceite Esencial	Control Positivo●		
		GEN	AMK	CIP
<i>B. subtilis</i> (CVCM 438)	$18,1 \pm 0,14$	$20,0 \pm 0,04$	$20,0 \pm 0,10$	$30,0 \pm 0,04$
<i>S. aureus</i> (CVCM 48)	$18,0 \pm 0,22$	$25,0 \pm 0,02$	$22,0 \pm 0,04$	$28,0 \pm 0,12$
<i>P. aeruginosa</i> (CVCM 625)	$14,0 \pm 0,13$	$28,1 \pm 0,11$	$24,0 \pm 0,03$	$32,0 \pm 0,04$
<i>E. coli</i> (CVCM 39)	$15,2 \pm 0,31$	$26,0 \pm 0,14$	$23,0 \pm 0,04$	$25,1 \pm 0,12$

S. enteritidis (CVCM 497) 14,2±0,23 21,1±0,11 18,0±0,12 23,0±0,03

* Promedio ± Desviación estándar

● GEN: Gentamicina; AMK: Amikacina; CIP: Ciprofloxacina

Meena *et al.* (1994) y Ela *et al.* (1996) establecieron rangos que relacionan la actividad del aceite esencial sobre las bacterias, según el diámetro del halo de inhibición. La escala fue la siguiente: ≥ 28 mm, inhibición fuerte; $< 28-16$ mm, inhibición moderada; $< 16-12$ mm, inhibición leve y < 12 mm, sin inhibición; lo cual permite evidenciar la sensibilidad de la bacteria al extracto natural. De acuerdo a esta categorización, el aceite esencial de *L. alba* inhibió moderadamente el crecimiento de las bacterias Gram positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*), mientras que las bacterias Gram negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. enteritidis*) mostraron una inhibición leve de su crecimiento.

El ANOVA ($F_s = 28,84$; $p < 0,05$) mostró diferencias significativas en las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de *L. alba* de acuerdo a la especie bacteriana; mediante la *prueba a posteriori* de Duncan (Tabla 6), se constató la formación de dos grupos: uno constituido por las bacterias Gram positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*) y el otro por las bacterias Gram negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. enteritidis*); esto sugiere que las bacterias Gram positivas son más proclives a inhibir su crecimiento se vea limitado debido a la presencia del aceite de *L. alba*.

Tabla 6. Prueba *a posteriori* de Duncan para la comparación de medias de las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de *L. alba* de acuerdo a la especie bacteriana.

Especie bacteriana	N	Medias	Grupos homogéneos
<i>P. aeruginosa</i>	3	1,147	X
<i>S. enteritidis</i>	3	1,152	X
<i>E. coli</i>	3	1,181	X
<i>S. aureus</i>	3	1,255	X
<i>B. subtilis</i>	3	1,257	X

De manera general, se evidenció que el aceite esencial en estudio mostró actividad sobre todas las cepas bacterianas evaluadas, aunque las bacterias Gram positivas fueron las más sensibles. El aceite de *L. alba* quimiotipo citral originario de Brasil, reveló resultados similares a este estudio, con una mayor actividad sobre la bacteria Gram positiva, *S. aureus* (15,5 mm) en comparación con las Gram negativas, *P. aeruginosa* (10,5 mm) y *E. coli* (8 mm) (Machado *et al.*, 2014). Por su parte Nogueira *et al.*, (2007), reportaron resultados variables en cuanto a la actividad antibacteriana del aceite esencial de citrona quimiotipo I obtenido también en Brasil. En este caso, hubo inhibición significativa del crecimiento de *B. subtilis* (15 mm) y *E. coli* (17 mm), mientras que la bacteria Gram negativa, *P. aeruginosa*, no fue susceptible al aceite.

Islam *et al.*, (2018), indicaron que el aceite esencial de *L. alba* aislado en India es rico en geranial/neral, tiene actividad sobre bacterias de diferentes grupos como, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, con halos de inhibición de 12, 23 y 15 mm, respectivamente. Asimismo, Nagaki *et al.*, (2018), estudiaron la actividad del citral, componente mayoritario del aceite de hojas de *L. alba* quimiotipo I contra *E. coli*, encontrando una inhibición moderada de su crecimiento, con zonas de inhibición de 19 mm; aunque no mostró actividad sobre *P. aeruginosa*. El aceite esencial de citrona aislado en esta investigación, mostró actividad baja sobre *P. aeruginosa*, en comparación con la variabilidad de rangos de inhibición citada anteriormente, quienes señalaron desde una actividad nula a una actividad moderada de los aceites esenciales sobre esta bacteria.

El ensayo previo que se realizó con el aceite esencial de *L. alba*, mostró inhibición leve del crecimiento bacteriano, tanto en las bacterias Gram positivas (*B. subtilis*, *S. aureus*) como en las Gram negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. enteritidis*) con halos de inhibición entre 12-16 mm (Rivas, 2015). Esta menor sensibilidad pudo estar relacionada con una baja concentración de citral (50,47%) en el aceite esencial, en comparación con lo reportado en esta investigación (57,42%). Hongmei *et al.*, (2006) señalaron que las diferencias en la concentración de los

componentes de los aceites esenciales, especialmente la variación en las cantidades de los componentes mayoritarios o minoritarios, pueden ser la clave de las diferencias en la actividad antibacteriana que estos poseen.

En la actualidad, la detección de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) es utilizada rutinariamente al momento de evaluar la capacidad antibacteriana de los aceites esenciales, ya sea por técnicas de dilución en agar, micro o macro dilución en caldo. Recientemente, diversos autores han realizado investigaciones determinando la CMI de los aceites esenciales, como El Mostaphi *et al.*, (2018), quienes demostraron la actividad del aceite esencial de *Impatiens balsamina* originario de Marruecos sobre *E. coli*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Bacillus* sp., *S. aureus* y *Acinetobacter*. Asimismo, Otaifah *et al.*, (2018), evaluaron la CMI de los aceites esenciales de las hojas de *Tarhomonanthus camphoratus*, *Pulicaria jaubertii* y *Plectranthus montanus* Benth contra *E. coli*, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* y *P. aeruginosa*. Dra *et al.*, (2019), detectaron los valores de la CMI del aceite esencial de *Caralluma europea* sobre *S. aureus*, *Micrococcus luteus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* y *Klebsiella*. Igualmente, Zapién-Chavarría *et al.*, (2019), utilizaron la CMI para medir la sensibilidad de bacterias como *E. coli*, *P. aeruginosa* y *E. faecalis* a los aceites esenciales de tres tipos de oréganos mexicanos. Por su parte, Mkaddem *et al.*, (2020), utilizaron la CMI para determinar la capacidad antibacteriana de los aceites esenciales de *Laurus nobilis* originarios de Túnez, Francia y Austria, sobre bacterias Gram positivas (*B. subtilis*, *S. aureus* y *Listeria*) y Gram negativas (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella enterica*). Estos estudios demostraron la vigencia de la CMI al momento de examinar si un aceite esencial es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. Del mismo modo, estas investigaciones evidenciaron cuales son las especies bacterianas utilizadas rutinariamente para los ensayos realizados con aceites esenciales, muchas de las cuales coinciden con las bacterias empleadas en este estudio.

En la figura 3 se muestra la CMI del aceite esencial de hojas de *L. alba* frente a diferentes especies bacterianas. Este parámetro representó la concentración más

baja del aceite esencial que inhibió el crecimiento de las bacterias, con valores que oscilaron entre 50 $\mu\text{g/mL}$ (*B. subtilis* y *S. aureus*) y 100 $\mu\text{g/mL}$ (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. enteritidis*).

La intensidad de la actividad antibacteriana se clasificó de acuerdo a los parámetros descritos por Duarte *et al.*, (2007), el cual consta de los siguientes rangos: ≤ 100 $\mu\text{g/mL}$, actividad muy fuerte; $>100-500$ $\mu\text{g/mL}$, actividad fuerte; $>500-1000$ $\mu\text{g/mL}$, actividad moderada; $>1000-2000$ $\mu\text{g/mL}$, actividad débil y >2000 $\mu\text{g/mL}$, sin actividad. De acuerdo a esta clasificación, el aceite esencial de hojas de *L. alba* tiene una actividad muy fuerte (CMI ≤ 100 $\mu\text{g/mL}$) tanto sobre las bacterias Gram positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*) como sobre las Gram negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli*, y *S. enteritidis*). Esto concuerda con lo mencionado por Hennebelle *et al.*, (2008), quienes afirmaron que valores de MIC entre 100-200 $\mu\text{g/mL}$ son considerados promisorios para valorar el uso del material vegetal de cualquier especie como un posible antibacteriano.

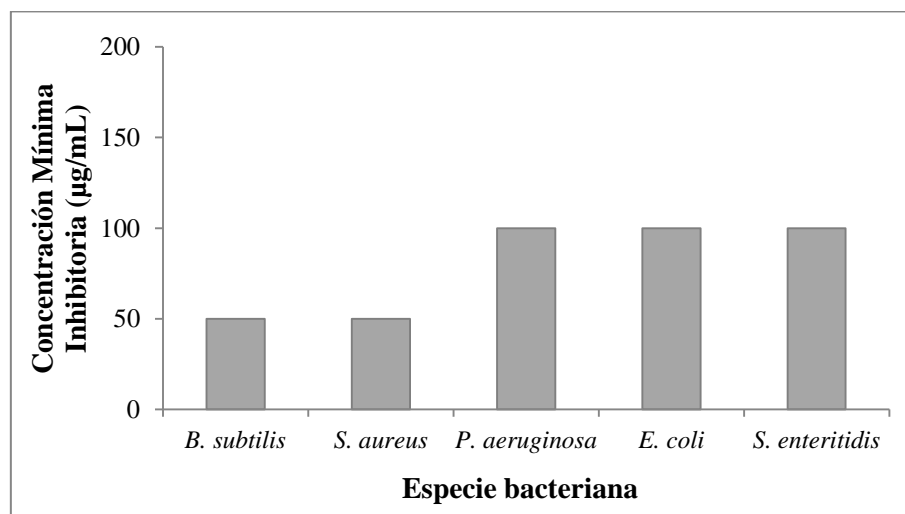


Figura 3. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de hojas de *L. alba* frente a diferentes especies bacterianas

El ANOVA demostró que existían diferencias significativas en la CMI del aceite esencial de *L. alba* de acuerdo a la especie bacteriana en estudio ($F_s = 35,63$; $p < 0,05$). A través de la prueba de múltiples rangos de Duncan (Tabla 7), se evidenció la formación de dos grupos: uno constituido por las bacterias Gram positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*) y el otro por las bacterias Gram negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli*, y *S. enteritidis*), es decir, cada grupo mostró un comportamiento similar frente al aceite esencial de citrón. Por lo que se deduce que la susceptibilidad bacteriana a este aceite, probablemente esté relacionada con la naturaleza de su pared celular.

Los trabajos de investigación relacionados con la CMI del aceite esencial de *L. alba* quimiotipo I mostraron variabilidad en la respuesta de las bacterias, pero básicamente este aceite exhibió potencial antibacteriano Machado *et al.*, (2014), indicaron que el aceite de citrón originario de Brasil pudo inhibir totalmente el desarrollo de *S. aureus* a una concentración de 290 $\mu\text{g/mL}$, mientras que tuvo una actividad débil sobre *E. coli* (1170 $\mu\text{g/mL}$) y no mostró actividad sobre el crecimiento de *P. aeruginosa* (9370 $\mu\text{g/mL}$). Sin embargo, Islam *et al.*, (2018), encontraron una actividad muy fuerte del aceite de citrón (CMI ≤ 100 $\mu\text{g/mL}$) sobre las especies *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *E. coli* con valores de 15, 62; 15,62 y 31,25 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Estos resultados de actividad antibacteriana son similares a los reportados en esta investigación, pudiendo ser atribuidos a la alta concentración de citral (*trans* y (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal) presente en el aceite de *L. alba*.

El citral es un monoterpeno al que se le atribuye actividad antibacteriana contra patógenos alimentarios como, *E. coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Listeria monocytogenes* y *S. aureus* (Pérez *et al.*, 2018). Dos Santos *et al.*, (2016), observaron que una menor concentración de citral en el aceite esencial (21,87%), posiblemente disminuyó la actividad antibacteriana de este contra *E. coli*, con una CMI de 4000 $\mu\text{g/mL}$; no obstante, es importante recalcar la actividad inhibitoria que tiene el aceite esencial de citrón quimiotipo I sobre las bacterias Gram positivas, específicamente sobre *B. subtilis* y *S. aureus*. Torrenegra *et al.*,

(2015) y Porfírio *et al.*, (2017), demostraron que este tipo de aceite originario de Colombia y Brasil, inhibieron el crecimiento de *S. aureus* a una CMI que osciló en un rango de 500 a 1000 µg/mL. Esto demostró la alta sensibilidad que presenta este microorganismo a los compuestos que conforman el aceite esencial de *L. alba* quimiotipo citral.

No cabe duda que la actividad antibacteriana de un aceite esencial depende tanto de su composición química como de las proporciones en las que se presenten cada uno de los elementos que lo conforman. Es importante tomar en cuenta que los aceites enciales tienen un mayor efecto sobre las bacterias Gram positivas que sobre las Gram negativas y esto parte de las diferencias en la naturaleza de sus paredes celulares. En las bacterias Gram positivas, el aceite esencial, de carácter hidrofóbico, puede penetrar con mayor facilidad en el interior de la célula bacteriana, es decir, los componentes del aceite pueden actuar tanto a nivel de la pared celular como en el citoplasma bacteriano (Pérez *et al.*, 2018).

Tabla 7. Prueba *a posteriori* de Duncan para la comparación de medias de la CMI en presencia del aceite esencial de *L. alba* de acuerdo a la especie bacteriana.

Especie bacteriana	N	Medias	Grupos homogéneos
<i>B. subtilis</i>	3	1,699	X
<i>S. aureus</i>	3	1,699	X
<i>P. aeruginosa</i>	3	2,000	X
<i>S. enteritidis</i>	3	2,000	X
<i>E. coli</i>	3	2,000	X

La complejidad de la pared celular de las bacterias Gram negativas las hace más resistentes al aceite esencial. Estas poseen una capa de peptidoglicano de 2-3 nm de grosor y una membrana externa que se encuentra ubicada fuera de la capa de peptidoglicano, las cuales están firmemente unidas por la lipoproteína de Braun. La membrana externa está compuesta por una doble capa de fosfolípidos que se une a la membrana interna por lipopolisacáridos (LPS), precisamente estas moléculas y otras proteínas presentes en la membrana externa, son unos de los elementos claves que las

hace más resistentes a los aceites esenciales u otros compuestos con actividad antibacteriana. La membrana externa no es totalmente impermeable a moléculas hidrófobas, como los aceites esenciales, por lo que estas podrían pasar lentamente al interior de la célula a través de las porinas (Nazzaro *et al.*, 2013).

Efectivamente, la naturaleza del aceite esencial de *L. alba* afecta el crecimiento de ambos tipos bacterianos, aunque inhibió en mayor medida el desarrollo de las bacterias Gram positivas, como se evidenció en los resultados de esta investigación. El componente predominante en el aceite fue el (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal y el (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal en 19,789 y 37,646%, respectivamente. Se considera que altas concentraciones de citral aportan propiedades antimicrobianas al aceite esencial. Primordialmente, su acción biológica está relacionada con su capacidad de alterar la membrana celular y modificar su permeabilidad. Este cambio, conduce a la desnaturalización de las proteínas y destrucción de la membrana celular, produciendo posteriormente fugas citoplasmáticas, lisis celular y muerte (Lima *et al.*, 2017; Pérez *et al.*, 2018).

El 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol, compuesto presente a una baja concentración en el aceite de citrona, también puede incrementar la permeabilidad de las membranas celulares, incluso de las bacterias Gram negativas, las cuales por naturaleza presentan LPS en su membrana que les confieren una carga negativa y las hace más resistentes a las moléculas hidrófobas (Pérez *et al.*, 2018).

Es importante tomar en cuenta que la capacidad antibacteriana de un aceite esencial no deriva únicamente del efecto de un componente mayoritario, sino de la acción sinérgica de los diferentes elementos que lo conforman. Argote *et al.*, (2017), coincidían al señalar que la susceptibilidad de los microorganismos a los aceites esenciales obedece tanto a la composición del aceite esencial como a las características propias de la especie microbiana.

Es por ello, que debemos tomar en cuenta que la diversidad de componentes del aceite esencial, en este caso de *L. alba*, implica que posiblemente su actividad antibacteriana no depende de un solo mecanismo. Fundamentalmente, los diferentes

compuestos que conforman los aceites esenciales no poseen objetivos celulares específicos y esto los lleva a funcionar de diversas formas (Peres *et al.*, 2018).

Además, es importante considerar al comparar los resultados de este estudio con diferentes investigaciones, que la composición química del aceite de *L. alba* puede variar en base a factores tan disímiles como son, las condiciones de cultivo, estado fisiológico y quimiotipo de la planta, método de extracción del aceite, método de evaluación antimicrobiana empleado, etc., lo que afectaría finalmente la capacidad antibacteriana del aceite (Ortega y Tofiño, 2019).

Los resultados de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *L. alba* pueden considerarse promisorios. Esto tomando en cuenta la capacidad inhibitoria que mostró contra diferentes especies bacterianas y que los aceites esenciales son mezclas de diferentes componentes, con diversos modos de acción y que incluso pueden actuar sinérgicamente (Bakkali *et al.*, 2008). En cambio, los antibióticos constituyen sustancias químicas concentradas y por ende pueden presentar mayor poder inhibitorio con zonas de inhibición más grandes.

Al determinar la sensibilidad de diferentes cepas bacterianas ante la presencia del aceite esencial de hojas de *C. sativum* (cilantro), se apreció que este mostró actividad antibacteriana sobre las diferentes especies bacterianas estudiadas, con halos de inhibición que oscilaron entre $15,8 \pm 0,14$ y $19,2 \pm 0,34$ mm de diámetro (Tabla 8). Las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano para los diferentes antibióticos analizados fueron mayores a los desarrollados con el aceite esencial de *C. sativum* ($18,0 \pm 0,12$ - $30,0 \pm 0,04$).

Tabla 8. Zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de hojas de *C. sativum*.

Cepa Bacteriana	Zona de Inhibición (mm)*			
	Aceite Esencial	Control Positivo●		
		GEN	AMK	CIP
<i>B. subtilis</i> (CVCM 438)	$19,1 \pm 0,12$	$20,0 \pm 0,04$	$20,0 \pm 0,10$	$30,0 \pm 0,04$
<i>S. aureus</i> (CVCM 48)	$19,2 \pm 0,34$	$25,0 \pm 0,02$	$22,0 \pm 0,04$	$28,0 \pm 0,12$
<i>P. aeruginosa</i> (CVCM 625)	$15,8 \pm 0,14$	$28,1 \pm 0,11$	$24,0 \pm 0,03$	$32,0 \pm 0,04$

<i>E. coli</i> (CVCM 39)	16,0±0,22	26,0±0,14	23,0±0,04	25,1±0,12
<i>S. enteritidis</i> (CVCM 497)	16,1±0,21	21,1±0,11	18,0±0,12	23,0±0,03

* Promedio ± Desviación estándar

● GEN: Gentamicina; AMK: Amikacina; CIP: Ciprofloxacina

El ANOVA ($F_s = 22,45$; $p < 0,05$), mostró diferencias significativas en las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de cilantro de acuerdo a la especie bacteriana. La prueba *a posteriori* de Duncan (Tabla 9), evidenció la formación de dos grupos, uno conformado por las bacterias Gram positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*) y otro por las Gram negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli*, y *S. enteritidis*); es decir, cada grupo mostró un comportamiento similar ante la presencia del aceite esencial del cilantro, con mayor actividad sobre las bacterias Gram positivas en comparación con las Gram negativas, lo cual se evidenció por el desarrollo de halos de inhibición más amplios en *B. subtilis* y *S. aureus*.

En concordancia con lo expuesto, es claro que el aceite de *C. sativum* de origen venezolano rico en aldehídos (58,508%) y alcoholes (34,810%) tiene actividad sobre los grupos bacterianos seleccionados, con un predominio sobre las bacterias Gram positivas. El aceite de *C. sativum* originario de Kenia dominado por aldehídos y alcoholes en 55,5% y 36,3%, respectivamente, presenta resultados similares a este estudio, con mayor sensibilidad sobre las bacterias Gram positivas. Esta sensibilidad se tradujo en halos de inhibición más grandes, como se evidenció en *S. aureus* (31 mm), en contraste con las Gram negativas con menores zonas de inhibición, particularmente *E. coli* (13 mm) y *P. aeruginosa*, sobre la que el aceite no tuvo actividad (Matasyoh *et al.*, 2009).

Tabla 9. Prueba *a posteriori* de Duncan para la comparación de medias de las zonas de inhibición del crecimiento bacteriano en presencia del aceite esencial de *C. sativum* de acuerdo a la especie bacteriana.

Especie bacteriana	N	Medias	Grupos homogéneos
<i>P. aeruginosa</i>	3	1,199	X
<i>E. coli</i>	3	1,205	X
<i>S. enteritidis</i>	3	1,208	X

<i>B. subtilis</i>	3	1,280	X
<i>S. aureus</i>	3	1,283	X

Particularmente, *P. aeruginosa*, es considerada una de las bacterias más resistentes a los aceites esenciales y esta tolerancia posiblemente se encuentre relacionada con el alto contenido de cationes en su membrana externa. Probablemente, los altos niveles de Mg^{2+} en su membrana externa incrementan los enlaces cruzados entre los LPS que junto con el pequeño tamaño de las porinas pueden limitar la entrada de moléculas antimicrobianas a través de la membrana bacteriana (McDonnell y Russell, 1999; Cox *et al.*; 2001).

El aceite de *C. sativum* extraído en Turquía, tuvo un amplio espectro de actividad sobre las diferentes bacterias estudiadas, aunque inferior en *P. aeruginosa*. Las zonas de inhibición desarrolladas fueron de 11, 21, 7 y 10 mm de diámetro para *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*, respectivamente, inhibiendo en mayor proporción a las bacterias Gram positivas. Yildiz (2016), atribuye la actividad antibacteriana del aceite de cilantro tanto a una composición rica en alcoholes y aldehidos, como a la permeabilidad que este presenta en las membranas celulares de los diferentes grupos bacterianos. Ğrtürk *et al.*, (2006), quienes también trabajaron en Turquía, señalaron que el aceite de *C. sativum* mostró actividad contra todos los tipos de bacterias probadas, con halos de inhibición de 18 (*S. aureus*), 12 (*P. aeruginosa*) y 20 mm de diámetro (*E. coli*).

El aceite de *C. sativum* proveniente de los Estados Unidos presentó una fuerte actividad inhibitoria sobre las diferentes bacterias patógenas evaluadas, con amplias zonas de inhibición que se registraron entre 19 (*P. aeruginosa*), 37 (*E. coli*) y 87 mm de diámetro (*S. aureus*). En líneas generales, se observa que el aceite de cilantro tiene actividad inhibitoria sobre las diferentes bacterias evaluadas, con mayor afinidad por las bacterias Gram positivas; sin embargo, el efecto del aceite puede variar dependiendo de la especie, tal como se evidencia con las respuestas de *P. aeruginosa* y *E. coli* en diferentes investigaciones (Elgayyar *et al.*, 2001).

Por esta razón, conocer la composición de un aceite esencial es importante para entender cómo podría actuar sobre diferentes microorganismos. De Melo *et al.*, (2019), estudió en Brasil el grado de actividad antibacteriana de un aceite esencial de *C. sativum* rico en aldehídos tales como decanal, *trans*-2-decenal, dodecanal, tetradecenal, algunos de los cuales están presentes también en el aceite esencial de esta investigación, aunque en proporciones diferentes. El aceite extraído en Brasil, no tuvo actividad contra *E. coli* y *Bacillus* spp., sin embargo, fue activo contra *S. aureus* en 3,46%, lo cual se relacionó con el sinergismo de los compuestos presentes en este quimiotipo.

El aceite esencial de cilantro constituido por aldehídos y alcoholes, tal como el de este estudio, posee una mayor actividad antibacteriana. Posiblemente, su mayor actividad esté relacionada con el efecto sinérgico que se da entre los aldehídos y alcoholes, dado que ambos son considerados activos, aunque con diferentes grados de especificidad y niveles de actividad. Por lo tanto, se considera que la acción conjunta de estos dos compuestos, potencia la acción antibacteriana del aceite esencial en comparación con el efecto que podría tener cada componente de manera aislada (Skaltsa *et al.*, 2003; Al-Snafi, 2016).

En relación con la CMI del aceite esencial de hojas de *C. sativum* frente a diferentes especies bacterianas, este registró valores entre 50 µg/mL (*B. subtilis* y *S. aureus*) y 100 µg/mL (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. enteritidis*) (Figura 4).

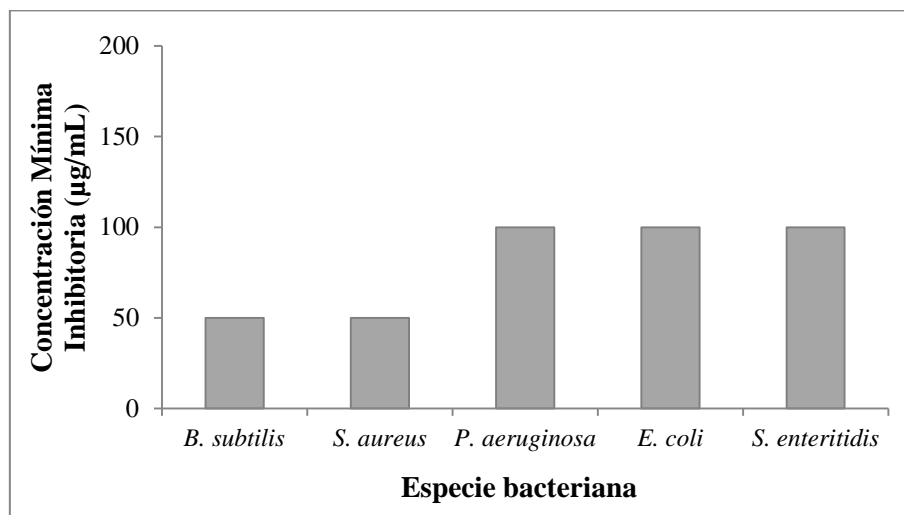


Figura 4. CMI del aceite esencial de hojas de *C. sativum* frente a diferentes especies bacterianas

En base a la clasificación sobre la intensidad de la actividad antibacteriana descrita por Duarte *et al.*, (2007), el aceite esencial de hojas de *C. sativum* tiene una actividad muy fuerte (CMI ≤ 100 µg/mL) tanto sobre las bacterias Gram positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*) como sobre las Gram negativas (*P. aeruginosa*, *E. coli*, y *S. enteritidis*).

Estadísticamente, la ANOVA demostró que existían diferencias significativas en la CMI del aceite esencial de *C. sativum* de acuerdo a la especie bacteriana en estudio ($F_s = 35,63$; $p < 0,05$). En la tabla 10 se muestra la prueba *a posteriori* de Duncan, la cual demostró la formación de dos grupos con comportamientos semejantes, uno conformado por *B. subtilis* y *S. aureus* (Gram positivas) y otro por *P. aeruginosa*, *E. coli*, y *S. enteritidis* (Gram negativas), lo cual denota que las características propias de la pared celular bacteriana juegan un papel clave en la sensibilidad que puede desarrollar un determinado grupo bacteriano ante la presencia del aceite esencial de cilantro.

Los resultados de esta investigación coincidieron con los de Yildiz (2016), quien registró una significativa actividad inhibitoria del aceite de *C. sativum*

originario de Turquía sobre diferentes especies bacterianas, con valores de 31,3 µg/mL para *S. aureus* y 500 µg/mL para *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *E. coli*.

Tabla 10. Prueba *a posteriori* de Duncan para la comparación de medias de la CMI en presencia del aceite esencial de *C. sativum* de acuerdo a la especie bacteriana.

Especie bacteriana	N	Medias	Grupos homogéneos
<i>B. subtilis</i>	3	1,699	X
<i>S. aureus</i>	3	1,699	X
<i>P. aeruginosa</i>	3	2,000	X
<i>S. enteritidis</i>	3	2,000	X
<i>E. coli</i>	3	2,000	X

La actividad antibacteriana de ambos aceites esenciales de cilantro, posiblemente se relacionó con una composición basada mayoritariamente en aldehídos y alcoholes, las cuales actúan de diferentes maneras. Particularmente, los alcoholes poseen afinidad de unión a diferentes estructuras moleculares, como proteínas o glicoproteínas. Por lo tanto, existe afinidad por las membranas celulares y un alto potencial para penetrar las paredes de las bacterias, lo que trae como consecuencia la fuga del material citoplasmático bacteriano (Pérez *et al.*, 2018). Mientras que los aldehídos ejercen su acción principalmente en la superficie celular, probablemente por alteración en la función de las proteínas asociadas a la membrana. A medida que los aldehídos poseen mayor electronegatividad, podrán formar puentes de hidrógenos intermoleculares que ocasionarán un significativo desorden en la doble capa lipídica, provocando la desnaturalización de la membrana celular de la bacteria. Los aldehídos pueden ser capaces de interferir en procesos biológicos como la transferencia de electrones, pueden reaccionar con el nitrógeno vital, etc., llegando finalmente a inhibir el crecimiento de los microorganismos (Dorman y Deans, 2000; Bisignano *et al.*, 2001).

En este mismo orden de ideas, el aceite esencial de hojas de *C. sativum* originario de Irán, ejerció una muy fuerte actividad inhibitoria en el crecimiento de todas las bacterias que evaluaron, coincidiendo con los resultados de este estudio. Los

valores de CMI del aceite esencial fueron de 5, 40 y 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *S. aureus*, *E. coli* y *Salmonella* sp., respectivamente (Rezaei *et al.*, 2016). Por su parte, el aceite esencial de *C. sativum* originario de Turquía, mostró una actividad débil sobre la bacteria Gram positiva, *S. aureus* (1070 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y no mostró actividad contra las bacterias Gram negativas, *P. aeruginosa* y *E. coli*, con una CMI de 4350 y 2150 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente (Ertürk *et al.*, 2006).

En el presente estudio se evidenció que el aceite esencial de hojas de *C. sativum* originario de Venezuela tuvo actividad sobre todas las cepas bacterianas estudiadas, aunque con diferentes grados de inhibición. Bassolé y Juliani (2012), señalaron que los aceites esenciales que poseen aldehídos entre sus componentes principales, como en este caso, exhibieron una actividad antimicrobiana significativa contra bacterias patógenas Gram positivas y Gram negativas. Hay que tener presente que la interacción que se da entre los diferentes metabolitos secundarios que conforman el aceite esencial inciden directamente en su actividad antibacteriana. Por lo general, este efecto sinérgico puede potenciar significativamente la acción antimicrobiana del aceite en comparación con el impacto de cada componente aislado (De Melo *et al.*, 2019).

Es importante tomar en cuenta que la variabilidad de respuestas a la presencia del aceite esencial de cilantro por parte de las diferentes especies bacterianas se encuentra relacionada no solo con el tipo de bacteria sino con la composición química del aceite esencial. Precisamente, esta composición química está influenciada por factores endógenos y exógenos. Los factores endógenos se encuentran relacionados con las características anatómicas y fisiológicas de las plantas, así como con las vías biosintéticas para la producción de los compuestos volátiles, que pueden variar de acuerdo al tejido de la planta o a la estación en que se encuentre. Por su parte, la exposición de la planta por tiempo prolongado a factores exógenos puede conducir a diferentes ecotipos o quimiotipos en una misma especie vegetal y ocasionar finalmente variabilidad en la composición de los aceites esenciales (El-Shenawy *et al.*, 2015).

La sensibilidad mostrada por las bacterias a la presencia del aceite esencial de *C. sativum*, muestra su potencialidad como antibacteriano, especialmente si se toma en cuenta que son extractos naturales conformados por varios compuestos a diferentes concentraciones y por lo general, su actividad es menor en comparación con los antibióticos, que ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función de la bacteria.

Los aceites esenciales estudiados poseen potencial como agentes antibacterianos y su actividad puede correlacionarse con la presencia de monoterpenos, como el citral, aldehídos y alcoholes. Su origen natural, los convierte en una alternativa tanto en la industria alimentaria como cosmética.

Esta investigación es un aporte para la quimiotaxonomía de *C. sativum* en Venezuela, dado que la naturaleza de este aceite esencial no había sido descrita en nuestro país y toma mayor relevancia si consideramos su alcance como agente antibacteriano. Asimismo, este trabajo permitió ampliar los conocimientos sobre el quimiotipo de *L. alba* identificado en la región oriental de Venezuela (Maturín), incluyendo el primer reporte de bioactividad contra bacterias que son potencialmente patógenas.

CONCLUSIONES

La composición química de *L. alba* presenta similaridad a la descrita en esta especie en otras regiones de Latinoamérica como Brasil, Colombia y Argentina, perteneciendo al quimiotipo I (citrinal); mientras que la composición química de *C. sativum* es semejante a las identificadas en países como Kenia, Corea del Sur, Polonia, Brasil y Perú, y constituye el primer registro de este quimiotipo en Venezuela.

Los diámetros de los halos de inhibición demuestran que ambos aceites esenciales presentan mayor actividad sobre las bacterias Gram positivas, *B. subtilis* y *S. aureus*, mientras que la bacteria Gram negativa, *P. aeruginosa*, fue la menos sensible a ambos extractos.

Los resultados de este estudio son prometedores y permiten vislumbrar el potencial de los aceites de *L. alba* y *C. sativum*, para su uso en la industria médica y/o alimentaria

RECOMENDACIONES

Determinar las variaciones estacionales de la composición de ambos aceites en varias regiones de Venezuela

Establecer intra e interrelaciones entre las diferentes zonas estudiadas.

Analizar el potencial bioactivo de sus aceites esenciales utilizando modelos de actividad biológica (antimicótico, antiviral, antihemático, anticancerígeno).

BIBLIOGRAFÍA

- Acero, J.; Guzmán, T. y Muñoz, C. 2019. Revisión documental de uso de los aceites esenciales obtenidos de *Lippia alba* (Verbenaceae), como alternativa antibacteriana y antifúngica. *Tecnol. Marcha.*, 32(1): 3-11.
- Adams, R. 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography quadropolke mass spectroscopy. Fourth edition. Allured Publishing Corporation, Carol Strem, Illinois, USA.
- Alarcón, M.; Oyarzo, C.; Escudero, C.; Cerda, F.; Valenzuela, F. 2017. Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénico tipo A, en frotis nasofaríngeos en manipuladores de alimentos. *Rev. Med. Chile*, 145: 1559-1564.
- Aldana, F. y Cruz, S. 2017. Actividad larvicida de aceites esenciales de *Lippia alba* y *Lippia graveolens*, contra *Aedes aegypti* L. *Rev. Cient.*, 26(2): 36-48.
- Al-Snafi, A. 2016. A review on chemical constituents and pharmacological activities of *Coriandrum sativum*. *IOSR J. Pharm.*, 6(7): 17-42.
- Andrews, J. 2001. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob. Chemoth.*, 48(1): 5-16.
- Argote, F.; Suarez, Z.; Tobar, M.; Perez, J.; Hurtado, A. y Delgado, J. 2017. Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Biotechnol. Sect. Agrop. Agroindus.*, 2: 52-60.
- Aular, Y.; Villamizar, M.; Pérez, Y. y Pérez, V. 2016. Composición química y toxicidad aguda oral del aceite esencial de *Lippia alba* en ratones. *Rev. Salus. UC.*, 20(1):43-51.
- Babar, A.; Naser, A.; Saiba, S.; Aftab, A.; Shah, K. y Firoz, A. 2015. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 5(8): 601-611.
- Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D. y Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils - a review. *Food Chem. Toxicol.*, 46(2), 446-475.
- Bassolé, I y Juliani, H. 2012. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17: 3989-4006.
- Bauer, A; Kirby, W; Sherris J; Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45(4): 493-496.

- Bhuiyan, M.; Begum, J. y Sultana, M. 2009. Chemical composition of leaf and seed essential oil of *Coriandrum sativum* L. from Bangladesh. *Bangladesh J. Pharmacol.*, 4: 150-153.
- Bisignano, G.; Lagana, M.; Trombetta, D.; Arena, S.; Nostro, A.; Uccella, N.; Mazzanti, G. y Saija, A. 2001. *In vitro* antibacterial activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L. *FEMS Microbiol. Lett.*, 198: 9-13.
- Blanco, M. 2014. Rendimiento de biomasa y aceite esencial de quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown en respuesta a las prácticas agronómicas y sus propiedades farmacológicas. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias Exactas, Maestría en Plantas Medicinales, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Bounatirou, S.; Smiti, S.; Miguel, M.; Faleiro, L.; Rejeb, M.; Neffati, M.; Costa, M.; Figueiredo, A.; Barroso, J. y Pedro L. 2007. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et Link. *Food Chem.*, 105: 146–155.
- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 94: 223–253.
- Carlin, F.; Brillard, J.; Broussolle, V.; Clavel, T.; Duport, C. y Jobin, M., 2010. Adaptation of *Bacillus cereus*, an ubiquitous worldwide distributed foodborne pathogen, to a changing environment. *Food Res Int.*, 43(7): 1885-1894.
- Ceballos, A. 2015. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Lippia origanoides* y sinergismo en combinación con timol. Trabajo de Grado. Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Escuela de Bioanálisis, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Chouhan, S.; Sharma, K. y Guleria, S. 2017. Antimicrobial activity of some essential oils-present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3): 1-21.
- Chung, I.; Ahmad, A.; Kim S.; Naik, P. y Nagella, P. 2012. Composition of the essential oil constituents from leaves and stems of Korean *Coriandrum sativum* and their immunotoxicity activity on the *Aedes aegypti* L. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 34(1):152-156.
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). 2018. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*. 28th edition. Clinical and Laboratory Standards Institute. USA.
- Conde, R.; Correa, V.; Carmona F.; Contini, S.; Pereira, M. 2011 Chemical composition and therapeutic effects of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown leaves hydro-alcoholic extract in patients with migraine. *Phytomedicine*, 18, 1197-

1201.

- Condori, M. 2019. Rendimiento y caracterización fisicoquímica del aceite esencial de (*Coriandrum sativum*) cilantro extraído por arrastre de vapor en un equipo modular. Trabajo de Grado. Facultad de Ingeniería Química. Escuela Profesional de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.
- Coronel, J. y Zevallos, L. 2019. Efecto del aceite esencial de *Lippia alba* (pampa orégano) frente al crecimiento de la cepa patrón de *Streptococcus mutans* ATCC 25175TM. *Cientifi-k*, 7(2): 24-29.
- Cortés, A.; Díaz, M.; Salgado, M. 2017. *Bacillus cereus*: alimentos, salud y biotecnología. *Agro Productividad*, 10(10): 3-9.
- Cox, D.; Mann, C.; Markham, J.; Gustafson, J.; Warmington, J. y Wyllie, S. 2001. Determining the antimicrobial actions of tea tree oil. *Molecules*, 6: 87–91.
- Davies, N. 1990. Gas chromatographic retention index of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20M phases. *J. Chromatogr.*, 503:1-24.
- De Melo, A.; Dos Santos, M.; De Carvalho Neto, M.; Takarashi, J.; Ferraz, V.; Edvan A. Chagas, E.; Chagas, P. y De Melo, A. 2019. Phytochemical trial and bioactivity of the essential oil from coriander leaves (*Coriandrum sativum*) on pathogenic microorganisms. *Chem. Eng. Trans.*, 75: 403-408.
- Delgado, J.; Sánchez, M.; y Bonilla, C. 2016. Efecto del secado y la edad de las plantas en la composición de los aceites esenciales de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britton & P. Wilson y *Lippia organoides* Kunth. *Acta Agron.*, 65(2): 170-175.
- Diederichsen, A. 1996. Coriander. *Coriandrum sativum* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 3. International Plant Genetic Resources Institute, (IPGRI), Rome, Italy.
- Dorman, H. y Deans, S. 2000. Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, 88: 308-316
- Dos Santos, N.; Pascon, R.; Vallim, M.; Figueiredo, C.; Soares, M.; Lago, J. y Sartorelli, P. 2016. Cytotoxic and antimicrobial constituents from the essential oil of *Lippia alba* (Verbenaceae). *Medicines*, 3(3): 2-9.
- Dra, L.; Aghraz, A.; Boualy, B.; Oubaassine, S.; Barakate, M.; Markouk, M. y Larhsini, M. 2019. Chemical characterization and *in vitro* antimicrobial

- activity of *Caralluma europaea* essential oil and its synergistic potential with conventional antibiotics. *J. Adv. Med. Pharm. Sci.*, 19(4), 1-11.
- Duarte, M.; Leme, E.; Delarmelina, C.; Soares, A.; Figueira, G. y Sartoratto, A. 2007. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *J. Ethnopharmacol.*, 111: 197–201.
- Dudareva, N.; Pichersky, E. y Gershenzon, J. 2004. Biochemistry of plant volatiles. *Plant. Physiol.*, 135:1893-1902.
- El Adab, S.; Mejrib, L.; Zaghib, I.; Hassounad, M. 2016. Evaluation of antibacterial activity of various commercial essential oils. *Amer. Sci. Res. J. Eng. Technol. Sci.*, 26(3): 212-224.
- El Mostaphi, A.; El Hartiti, H.; Barrahi, M. y Ouhssine, M. 2018. Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco, *Impatiens balsamina*. *J. Clin. Toxicol.*, 8(2): 1-4.
- Ela, M., El-Shaer, N. y Ghanem, N. 1996. Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Pharmazie* 51: 993-995.
- Elgayyar, M.; Draughon, A.; Golden, D. y Mount, R. 2001. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food Prot.*, 64(7): 1019-1024.
- El-Shenawy, M.; Baghdadi, H. y El-Hosseiny, L. 2015. Antibacterial activity of plants essential oils against some epidemiologically relevant food-borne pathogens. *Open. Publ. Health.*, 8: 30-34.
- Ërtürk, O.; Özbucak, T. y Bayrak, A. 2006. Antimicrobial activities of some medicinal essential oils. *Herba Pol.*, 52(1): 58- 66.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2011. Preventing *Escherichia coli* in food. FAO. Rome, Italy.
- Freires, I.; Murata, R.; Furletti, V.; Sartoratto, A.; Alencar, S.; Figueira, G.; Rodrigues, J.; Duarte, M. y Rosalen, P. 2014. *Coriandrum sativum* L. (coriander) essential oil: Antifungal activity and mode of action on *Candida* spp., and molecular targets affected in human whole-genome expression. *PLOS ONE*, 9(6): 1-13.
- Freires, I.; Denny, C.; Benso, B.; Alencar, S. y Rosalen, P. 2015. Antibacterial activity of essential oils and their isolated constituents against cariogenic bacteria: a systematic review. *Molecules*, 20(4): 7329-7358.

- González, N.; Meza, M.; Quintero, A. y Araque, C. 2019. Especies aromáticas promisorias y sus aceites esenciales. *Obs. Conocim.*, 4(1): 105-110.
- Gupta, M. 1995. 270 plantas medicinales iberoamericanas. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Subprograma de Química Fina Farmacéutica. Convenio Andrés Bello. Bogotá, Colombia.
- Hassanen, N.; Eissa, A.; Hafez, S. y Mosa, E. 2015. Antioxidant and antimicrobial activity of celery (*Apium graveolens*) and coriander (*Coriandrum sativum*) herb and seed essential oils. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, 4(3): 284-296.
- Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Dermont, C.; Joseph, H.; Bailleul, F. 2006. The essential oil of *Lippia alba*: analysis of samples from French overseas departments and review of previous works. *Chem. Biodiversity*, 3: 1116–1125.
- Hennebelle, T.; Sahpaz, S.; Joseph, H.; Bailleul, F. 2008. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. *J. Ethnopharmacol.*, 116, 211-222.
- Hernández, L.; Aguirre, Y.; Nevárez, G.; Gutiérrez, N. y Salas, E. 2014. Use of essential oils and extracts from spices in meat protection. *J. Food Sci. Technol.*; 51(5): 957-963.
- Hogg, S. 2005. Essential microbiology. First edition. John Wiley & Sons. West Sussex, England.
- Hongmei, L.; Xianjin, W.; Liang, Y. y Zhang, J. 2006. Variation in chemical composition and antibacterial activities of essential oils from two species of *Houttuynia thunb*. *Chem. Pharm. Bull.*, 54: 936-940.
- Iqbal, M.; Butt, M.; Suleria, H. 2018. Coriander (*Coriandrum sativum* L.): Bioactive molecules and health effects. En: *Bioactive molecules in food*. Mérillon, J. y Ramawat, K. (eds). Reference Series In Phytochemistry. Springer. Switzerland, 1-37 pp.
- Islam, M.; Amin, M.; Ahmed, M.; Khatun, S.; Rahman, M.; Siddiqui, S.; Rahman, M.; Kudrat-E-Zahan, M. y Mannan, M. 2018. *In-vitro* antimicrobial activity of essential oils and different organic extracts of *Lippia alba*. *J. Phytochem. Biochem.*, 2: 1-5.
- Jones, F. 1996. Herbs- useful plants. Their role in history and today. *Euro. J. Gastro. Hepat.* 8: 1227-1231
- Khalil, N.; Ashour, M.; Fikry, S.; Singab, A. y Salama, O. 2018. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of selected Apiaceous fruits. *Futur. J. Pharm. Sci.*, 4: 88-92.

- Koneman, E.; Allen, S.; Dowell, V.; Sommers, H. 2003. Diagnóstico Microbiológico. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana S.A., Buenos Aires, Argentina.
- Lima, D.; Cardôso, J.; Calvacanti, R.; Cavalcanti, B y Lima, I. 2017. Estudio de la actividad antibacteriana de los monoterpenos timol y carvacrol contra cepas de *Escherichia coli* productoras de β -lactamasas de amplio espectro. *Rev. Pan-Amazônica de Saúde*, 8(1): 17-21.
- Linde, G.; Colauto, N.; Albertó, E. y Z. Gazim, Z. 2016. Quimiotipos, extracción, composición y aplicaciones del aceite esencial de *Lippia alba*. *Rev. Bras. Plant. Med.*, 18: 191–200.
- MacFaddin, J. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Tercera edición. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- Machado, T.; Nogueira, N.; de Cássia, A.; de Sousa, C. y Batista, V. 2014. The antimicrobial efficacy of *Lippia alba* essential oil and its interaction with food ingredients. *Braz. J. Microbiol.*, 45(2): 699-705.
- Mamun-Or-Rashid A.; Sen, M.; Jamal, M. y Nasrin, S. 2013. A comprehensive ethno-pharmacological review on *Lippia alba* M. *Int. J. Biomed. Mater. Res.*, 1(1): 14–20.
- Mandal, S. y Mandal, M. 2015. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 5(6), 421-428.
- Matasyoh, J.; Maiyo, Z.; Ngure, R. y Chepkorir, R. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Coriandrum sativum*. *Food Chem.*, 113(2): 526-529.
- McDonnell, G. y Russell, D. 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 12: 147-179.
- Medina, L.; Araya, J. y Tamayo, R. 2011. Comparación de metodologías de extracción para limoneno y carvona en *Lippia alba* usando cromatografía de gases. *Cienc. Technol.*, 27: 1-13.
- Meena, M. y Sethi, V. 1994. Antimicrobial activity of essential oils from spices. *J Food Sci. Technol.* 31:68-70.
- Mejía, O.; Marcial, J.; Sánchez, M.; Bonilla, C. y Vanegas, P. 2007. Efecto de la altura y frecuencia de corte y secado en el rendimiento y calidad del aceite esencial de pronto alivio. *Scientia Tech.*, 23(33):253-255.

- Mejía, M.; Marín, G. y Menjivar, J. 2014. Respuesta fisiológica de cilantro (*Coriandrum sativum* L.) a la disponibilidad de agua en el suelo. *Acta Agron.*, 63(2): 246-252.
- Mkaddem, M.; Romdhane, M.; Lebrihi, A.; Mathieu, F. y Bouajila, J. 2020. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of Tunisian, France and Austrian *Laurus nobilis* (Lauraceae) essential oils. *Not. Bot. Horti. Agrobot. Cluj. Napoca*, 48(4), 1929-1940.
- Monsalve, L. 2007. Comparación de la composición química de los aceites esenciales de las plantas de *Lippia alba* (Mill) N.E Brown, provenientes de diferentes regiones de Colombia. Trabajo de Grado. Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Moreira M.; Ponce A.; de Valle, C. y Roura, S. 2005. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT - Food Sci. Technol.*, 38: 565-570.
- Nagaki, M.; Nara, T.; Sakaiya, S.; Yamanouchi, K.; Tsujiguchi, T. y Chounan, Y. 2018. Biotransformation of citronellal, geranial, citral and their analogs by fungus and their antimicrobial activity. *Trans. Mat. Res. Soc. Japan*. 43: 355-358.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R. y De Feo, V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6: 1451-1474.
- Ngome, M.; Ferreira, J.; Freitas, A.; Da Silva, P.; Mondragon, O. y Hilsdorf, R. 2018. Linalool, citral, eugenol and thymol: control of planktonic and sessile cells of *Shigella flexneri*. *AMB Expr.*, 8:105-115.
- Nikaido, H. 2003. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 67: 593-656.
- Nogueira, M.; Diaz, G.; Sakumo, L. y P. Tagami, P. 2007. Antibacterial activity of *Lippia alba* (Lemon Herb). *Lat. Am. J. Pharm.*, 26 (3), 404-406.
- Nurzyńska, R. 2013. Essential oil composition of the coriander (*Coriandrum sativum* L.) herb depending on the development stage. *Acta Agrobot.*, 66: 53-60.
- Ombito, J.; Salano, E.; Yegon, P.; Ngetich, W. y Mwangi, E. 2014. A review on the chemistry of some species of genus *Lippia* (Verbenaceae family). *J. Sci. Innov. Res.*, 3(4): 460-466.
- Ortega, M.; Tofiño, A.; Mena, O.; Martinez, M.; Galvis, D. y Merini, L. 2016. Microbial activity of essential oils of *Lippia alba* and *Cymbopogon citratus* on *Streptococcus mutans* and cytotoxicity in CHO cells. *Vitae* 23(1): 503-506.

- Ortega, M y Tofiño, A. 2019. Revisión exploratoria de la actividad antibacteriana y antifúngica de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br (pronto alivio). *Rev. Cuba. Plantas Med.*, 24(1): 1-14.
- Otaifah, Y.; Bouyahya, A.; Talbaoui, A.; Harhar, H. y El Hajjaji, S. 2018. Chemical composition of yemeni medicinal plants essentials oils and their antibacterial and antioxidant activities. *Phytothérapie*, 18(3-4): 195-203.
- Paz, V.; Mangwani, S.; Martínez, A.; Álvarez, D.; Solano, S. y Vázquez, R. 2019. *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Rev. Chilena Infectol.*, 36(2): 180-189
- Peres, A.; Pinheiro, J. y Cunha, C. 2018. Antimicrobial activity of essential oils from *Lippia alba*, *Lippia sidoides*, *Cymbopogon citrates*, *Plectranthus amboinicus*, and *Cinnamomum zeylanicum* against *Mycobacterium tuberculosis*. *Cienc. Rural*, 48(6): 1-9.
- Pérez, C.; Torres, C. y Núñez, M. 2018. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Verbenaceae specie growing in South America. *Molecules*, 23(3): 544-564.
- Perricone, M.; Arace, E.; Corbo, M.; Sinigaglia, M. y Bevilacqua, A. 2015. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Front. Microbiol.*, 6(76): 1-7.
- Porfírio, E.; Melo, H.; Pereira, A.; Cavalcante, T.; Gomes, G.; Carvalho, M.; Costa, R. y Catunda, F. 2017. *In vitro* antibacterial and antibiofilm activity of *Lippia alba* essential oil, citral, and carvone against *Staphylococcus aureus*. *Sci. World J.*, 2017: 1-7.
- Potter, T. 1996. Essential oil composition of cilantro. *J. Agric. Food Chem.* 44: 1824-1826.
- Rezaei, M.; Karimi, F.; Shariatifar, N.; Mohammadpourfard, I. y Shiri, E. 2016. Antimicrobial activity of the essential oil from the leaves and seeds of *Coriandrum sativum* toward food-borne pathogens. *West Indian Med J.*; 65(1): 8-12.
- Rincón, D.; Ramírez, R. y Vargas, J. 2011. Transmisión de *Salmonella enterica* a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. *Rev. Univ. Ind. Santander Salud*, 43(2): 167-177.
- Ríos, J.; Recio, M. y Villar, A. 1988. Screening methods for natural products with antimicrobial activity. A review of the literature. *J. Ethnopharmacol.*, 23:127-149.

- Rivas, K. 2015. Composición química y actividad antibacteriana preliminar del aceite esencial de *Lippia alba* (MILL.). 4to Congreso Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación. Cumaná, Venezuela.
- Rota, C.; Carramiñana, J.; Burillo, J. y Herrera, A. 2004. *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *J. Food Prot.*, 67: 1252–1256.
- Sierra, M.; Barros, R.; Gómez, D.; Mejía, A. y Suárez, D. 2018. *Productos naturales: metabolitos secundarios y aceites esenciales*. Fundación Universitaria Agraria de Colombia – UNIAGRARIA. Bogotá, Colombia.
- Silva, F.; Ferreira, S.; Queiroz, J.; Domingues, F. 2011. Coriander (*Coriandrum sativum* L) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry. *J. Med. Microbiol.*, 60: 1479-86.
- Skaltsa, H.; Demetzos, C.; Lazari, D. y Sokovic, M. 2003. Essential oil analysis and antimicrobial activity of eight *Stachys* from Greece. *Phytochemistry*, 64: 743-752.
- Soberón, G. y Palmeros, B. 1994. *Pseudomonas* lipases: molecular genetics and potential industrial applications. *Critical Rev. Microbiol.* 20: 95-105.
- Sokal, R. y Rohlf, F. 1995. Biometry. Third edition. W. H. Freeman and Company, Nueva York. 887 pp.
- Stashenko, E.; Martínez, J.; Durán, D.; Córdoba, Y. y Caballero, D. 2014. Estudio comparativo de la composición química y la actividad antioxidante de los aceites esenciales de algunas plantas del género *Lippia* (Verbenaceae) cultivadas en Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Ex. Fis. Nat.*, 38: 89-105.
- Tak, J. e Isman, M. 2016. Metabolism of citral, the major constituent of lemongrass oil, in the cabbage looper, *Trichoplusia ni*, and effects of enzyme inhibitors on toxicity and metabolism. *Pestic. Biochem. Phys.*, 133: 20-25.
- Tavares, E.; Julião, L.; Leitão, S.; Lage, C.; Viccini, L.; Pierre, P. y Davide, L. 2003. Diferenças morfológicas, anatômicas e fisiológicas de dois quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. relacionadas à poliploidia. VI Congresso de Ecologia do Brasil, Simpósios Biodiversidade, Unidades de Conservação, Indicadores Ambientais, Cerrado e Caatinga. Fortaleza: Editora da Universidade Federal do Ceará, 99.
- Tavares, E.; Julião, L.; Lopes, D.; Bizzo, H.; Lage, C. y Leitão, S. 2005. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. *Rev. Bras. Farmacogn.*, 15(1): 1-5.

- Telci, I.; Toncer, O. y Sahbaz, N. 2006. Yield essential oil content and composition of *Coriandrum sativum* varieties (var. *vulgare* Alef and var. *microcarpum* DC.) grown in two different locations. *J. Essent. Oil Res.*, 18: 189- 193.
- Telci, I. y Hisil, Y. 2008. Biomass Yield and herb essential oil characters at different harvest stages of spring and autumn sown *Coriandrum sativum*. *Eur. J. Hortic. Sci.*, 73: 267-272.
- Tohidpour, A.; Sattari, M.; Omidbaigi, R.; Yadegar, A. y Nazemi, J. 2010. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17(2), 142-145.
- Torrenegra, M.; Matiz, G.; Gil, C. y León, G. 2015. Actividad antibacteriana *in vitro* de aceites esenciales frente a microorganismos implicados en el acné. *Rev. Cuba. Farm.*, 49(3): 512-523.
- Türkmen, M.; Bahadırli, P. y Mert, A. 2016. *Essential oil components of fresh coriander (Coriandrum Sativum L.) herbs from different locations in Turkey*. ICAMS 2016. 6th International Conference on Advanced Materials and Systems. Turkey. 305-308 pp.
- Vieira, J.; Gonçalves, J.; Villarreal, P.; Gonçalves, V.; Lund, R.; Freitag, R.; Silva, A. y Nascente, P. 2018. Chemical composition of essential oils from the Apiaceae family, cytotoxicity, and their antifungal activity *in vitro* against *Candida* species from oral cavity. *Braz. J. Biol.*, 79 (3): 432-437.
- Vit, P.; Silva, B. y Meléndez, P. 2002. *Lippia alba* N. E. Br. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela N° 2 Cidrón. *Rev. Fac. Farm.*, 43(2), 13–14.
- WHO (World Health Organization). 2015. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases: foodborne disease burden epidemiology reference group 2007-2015. First edition. World Health Organization. Switzerland.
- Yadav, S. y Prabha, R. 2017. Biological properties of essential oils against pathogenic microorganisms: a review. *Int. J. Med. Pharm. Sci.*, 7(1): 61-68.
- Yildiz, H. 2016. Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant activities of essential oil and ethanol extract of *Coriandrum sativum* L. leaves from Turkey. *Int. J. Food Prop*, 19:1593-1603.
- Zaika, L. 1988. Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination. *J. Food Saf.*, 9: 97-118.
- Zapata, B.; Betancur-Galvis, L.; Duran, C. y Stashenko, E. 2014. Cytotoxic activity of Asteraceae and Verbenaceae family essential oils. *J. Essent. Oil Res.*,

26(1): 50-57.

- Zapién-Chavarría, K.; Plascencia-Terrazas, A.; Venegas-Ortega, M.; Varillas-Torres, M.; Rivera-Chavira, B.; Adame-Gallegos J.; González-Rangel, M. y Nevárez-Moorillón, G. 2019. Susceptibility of multidrug-resistant and biofilm-forming uropathogens to mexican oregano essential oil. *Antibiotics*, 8(4): 186- 197.
- Zendejas, G.; Avalos, H. y Soto, M. 2014. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev. Biomed.*, 25: 129-14.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE <i>Lippia alba</i> (Mill.) NE Brown (VERBENACEAE) Y <i>Coriandrum sativum</i> L. (APIACEAE)
Subtítulo	

Autor (es):

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Rivas R. Karla R.	CVLAC	14498670
	e-mail	kriuz25@gmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Aceite esencial
Compuestos volátiles
Actividad antibacteriana
Citrona
Cilantro

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Biología

Resumen (abstract):

Los aceites esenciales (AE) son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que presentan actividad biológica. La presente investigación analizó la composición química y actividad antibacteriana de los AE de *Lippia alba* (citrona) y *Coriandrum sativum* (cilantro). Los AE se obtuvieron por hidrodestilación de las hojas para cada especie vegetal. Posteriormente, se determinó la composición química del AE por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM). La actividad antibacteriana se estimó utilizando cepas de *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* y *Staphylococcus aureus*, como modelos de antibiosis según método cuantitativo de Kirby-Bauer (1966). La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se estimó a través del método de macrodilución en caldo según la técnica estandarizada por el CLSI (2018). El rendimiento de los AE provenientes de las hojas frescas de *L. alba* fue 2,15% y 13 compuestos que constituyeron 76,271% del aceite. El (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (geranial) (37,646%), (2Z)-3,7-dimetilocta-2,6-dienal (neral) (19,789%), 2-metilpropanoato de (2E)-3,7-dimetilocta-2,6-dienilo (6,249%), 6-metil-5-hepten-2-ona (4,090%), 4-[(Z)-1,5-dimetil-1,4-hexadienil]-1-metil-1-ciclohexeno (2,998%) y 3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol (2,379%) representaron los compuestos volátiles más abundantes. Los AE de *C. sativum* presentaron un rendimiento de 0,83%, su análisis permitió identificar 25 compuestos, los cuales representan 99,260% del total extraído, siendo los componentes mayoritarios undecanal (46,894%), 1-heptadecanol (26,874%), tetradecanal (3,874%), (Z)-cis-9-eicosen-1-ol (3,219%), (E)-11-tetradecen-1-ol (3,008%), trans-9-tetradecenal (2,685%) y trans-2-

decenal (2,212%). Los AE de *L. alba* y *C. sativum* mostraron actividad antibacteriana, observándose halos de inhibición de $14,0 \pm 0,13$ a $18,1 \pm 0,14$ mm y de $15,8 \pm 0,14$ a $19,2 \pm 0,34$ mm de diámetro, respectivamente. Mientras que la CMI de ambos AE oscilaron entre $50 \mu\text{g/mL}$ (*B. subtilis* y *S. aureus*) y $100 \mu\text{g/mL}$ (*P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. enteritidis*). Los AE de ambas especies demostraron actividad antibacteriana, siendo las bacterias Gram positivas (*B. subtilis* y *S. aureus*) las más susceptibles. Los resultados de este estudio son prometedores y permiten vislumbrar el potencial de producción de los aceites de *L. alba* y *C. sativum* para su uso en la industria médica y/o alimentaria.

Palabras clave: aceite esencial, compuestos volátiles, actividad antibacteriana.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
	ROL	C <input type="text"/> A <input type="text"/> S <input type="text"/> T <input type="text"/> U <input type="text"/> J <input type="text"/> U <input type="text"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	ROL	C <input type="text"/> A <input type="text"/> S <input type="text"/> T <input type="text"/> U <input type="text"/> J <input type="text"/> U <input type="text"/>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2021		

Lenguaje: spa .

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6**Archivo (s):**

Nombre de archivo	Tipo MIME
TA-rivask.doc	Word 1997-2003

Alcance:

Espacial: Nacional (Opcional)

Temporal: Temporal (Opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo:

TRABAJO DE ASCENSO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
ASCENDER A LA CATEGORÍA DE PROFESOR ASISTENTE

Nivel Asociado con el Trabajo: PROFESOR ASISTENTE

Área de Estudio: Biología

Institución (es) que garantiza (n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE, NÚCLEO DE SUCRE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CU N° 0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNVELO
Secretario

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *[Firma]*
FECHA 05/8/09 HORA 5:30

C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Telemática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/manuja

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



Karla R. Rivas Ruiz
AUTORA