



**Actividad antibacteriana de la mezcla de los aceites esenciales de  
*Minthostachys setosa* y *Citrus maxima***

Antibacterial activity of blends of essential oils of *Minthostachys setosa* and *Citrus maxima*

Víctor Andrés Tapia Puma<sup>1</sup> <https://orcid.org/0009-0000-8215-3585>

Mario J. Urrunaga Ormachea<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-3451-8890>

Carla del Carpio-Jiménez<sup>2\*</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7487-354X>

Heldy Yiyi Espinoza Carrasco<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-4016-8815>

Karen Jessica Jordan Quispe<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0003-2599-1181>

Marly Anai Chavez Vasquez<sup>3</sup> <https://orcid.org/0009-0006-9848-0146>

Giancarlo Gutierrez-Chavez<sup>4</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1672-9117>

<sup>1</sup>Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Escuela Profesional de Biología. Cusco, Perú.

<sup>2</sup>Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Laboratorio de Tecnología Farmacéutica. Cusco, Perú.

<sup>3</sup>Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Cusco, Perú.

<sup>4</sup>Universidad Continental. Facultad de Ciencias de la Salud. Cusco, Perú.

\*Autor para correspondencia. Correo electrónico: [delcarpiojc\\_daqf@unsaac.edu.pe](mailto:delcarpiojc_daqf@unsaac.edu.pe)



## RESUMEN

**Introducción:** El aumento de la resistencia a los antibacterianos clásicos, representa una grave preocupación en el tratamiento de enfermedades infecciosas. Surge la necesidad de estudiar nuevas moléculas antibacterianas, entre las cuales destacan los aceites esenciales.

**Objetivo:** Cuantificar los principales componentes químicos de los aceites esenciales de *Minthostachys setosa* y *Citrus maxima*, establecer sus características organolépticas, fisicoquímicas y determinar la actividad antibacteriana de sus mezclas.

**Métodos:** Los componentes químicos se cuantificaron usando cromatografía de gases, acoplada a espectrometría de masas. Las características organolépticas y fisicoquímicas se determinaron usando métodos estandarizados de la *Association of Official Analytical Collaboration* (AOAC). La actividad antibacteriana se determinó mediante la técnica de difusión en disco.

**Resultados:** Pulegona (80,4 %) y D-limoneno (33,61 %) fueron los principales componentes de los aceites esenciales de *M. setosa* y *C. maxima*. Las características organolépticas fueron: olor mentolado intenso y sabor picante para *M. setosa*; olor cítrico potente y sabor ligeramente amargo para *C. maxima*. Las características fisicoquímicas fueron: pH de 5,2 y 5,4; densidades de 0,914 g/mL y 0,821 mg/mL; e índices de refracción de 1,4856 y 1,4739. La mezcla 8 (94 % de *M. setosa* y 6 % de *C. maxima*) presentó halos de inhibición de 14,77 mm frente a *Pseudomonas aeruginosa* y de 12,83 mm frente a *Streptococcus mutans*.

**Conclusiones:** Pulegona y D-limoneno predominaron en *M. setosa* y *C. maxima* respectivamente, las características organolépticas y fisicoquímicas corresponden a los aceites esenciales estudiados. La mezcla 8 presentó actividad antibacteriana sobre *P. aeruginosa* y *S. mutans*.

**Palabras clave:** aceite esencial; *Citrus máxima*; mezcla; *Minthostachys setosa*; sinergismo.

## ABSTRACT

**Introduction:** The increasing resistance to classical antibacterials represents a serious concern in the treatment of infectious diseases. This has led to a need to study new antibacterial molecules, among which essential oils stand out.



**Objective:** To quantify the main chemical components of the essential oils of *Minthostachys setosa* and *Citrus maxima*, establish their organoleptic and physicochemical characteristics, and determine the antibacterial activity of their mixtures.

**Methods:** The chemical components were quantified using gas chromatography coupled to mass spectrometry. Organoleptic and physicochemical characteristics were determined using standardized methods from the Association of Official Analytical Collaboration (AOAC). Antibacterial activity was determined by the disk diffusion technique.

**Results:** Pulegone (80.4%) and D-limonene (33.61%) were the main components of the essential oils of *M. setosa* and *C. maxima*. The organoleptic characteristics were an intense menthol odor and spicy taste for *M. setosa*, and a potent citrus odor and slightly bitter taste for *C. maxima*. The physicochemical characteristics were pH 5.2 and 5.4; densities of 0.914 g/mL and 0.821 mg/mL; and refractive indices of 1.4856 and 1.4739. Mixture 8 (94% *M. setosa* and 6% *C. maxima*) showed inhibition zones of 14.77 mm against *Pseudomonas aeruginosa* and 12.83 mm against *Streptococcus mutans*.

**Conclusions:** Pulegone and D-limonene predominated in *M. setosa* and *C. maxima* respectively. The organoleptic and physicochemical characteristics correspond to the essential oils studied. The mixture 8 showed antibacterial activity against *P. aeruginosa* and *S. mutans*.

**Keywords:** *Citrus maxima*; essential oil; mixture; *Minthostachys setosa*; synergism.

Recibido: 08/08/2025

Aprobado: 04/02/2026

## INTRODUCCIÓN

Las bacterias multirresistentes se consideran una de las amenazas emergentes más importantes para la salud humana en todo el mundo. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de encontrar estrategias alternativas para prevenir y tratar las infecciones bacterianas derivadas de las bacterias



multirresistentes, con nuevas estructuras químicas y mecanismos de acción novedosos. El frecuente incremento de la resistencia a los antimicrobianos clásicos, desarrollada por algunos microorganismos, representa una alarmante preocupación en cuanto al tratamiento de las enfermedades infecciosas.<sup>(1)</sup>

Los productos naturales podrían representar una alternativa capaz de incrementar la eficacia de los antibióticos, ya que esta, se ve debilitada por la resistencia bacteriana. Diversos trabajos de investigación demuestran que los fitoquímicos poseen actividad antibacteriana contra patógenos resistentes, a través de diferentes mecanismos de acción.<sup>(2)</sup>

Ante la necesidad de encontrar nuevos antimicrobianos, los aceites esenciales (AE) se presentan como prometedores candidatos. La idea de usarlos se ha extendido por el mundo en las últimas décadas,<sup>(3)</sup> debido a que estudios recientes evidencian que los AE individuales y sus componentes aislados, tales como terpenos y terpenoides (por ejemplo, 1,8-cineol y carvacrol) poseen propiedades antimicrobianas frente a una amplia variedad de patógenos. Su compleja composición, les permitiría desarrollar múltiples mecanismos antibacterianos, que podrían deberse a la acción sinérgica de sus componentes.<sup>(4)</sup> Esta actividad antibacteriana está vinculada, tanto a su composición, como a su capacidad citotóxica, que provoca daños en la membrana celular.

Los componentes de los AE son lipofílicos, lo que facilita su penetración a través de la pared celular y la membrana citoplasmática. Los AE pueden alterar la estructura de las capas de polisacáridos, ácidos grasos y fosfolípidos, lo que incrementa la permeabilidad de la membrana celular.<sup>(5)</sup> Además, el pequeño tamaño de estas moléculas facilita su paso a través de las paredes celulares e impacta en diferentes procesos bioquímicos.<sup>(6)</sup>

Debido a que los AE presentan composiciones químicas variables es razonable anticipar que su actividad antibacteriana, también difiera, y que la dosis efectiva dependa de posibles interacciones sinérgicas. Es decir, dependerá de la combinación de AE en distintas concentraciones. La interacción entre diversos AE y sus compuestos mayoritarios o minoritarios puede generar efectos aditivos o sinérgicos.



El objetivo de la presente investigación es cuantificar los principales componentes químicos de los AE de *Minthostachys setosa* y *Citrus maxima*, establecer sus características organolépticas, fisicoquímicas, y determinar la actividad antibacteriana de sus mezclas.

## MÉTODOS

### Cepas bacterianas

Bacterias gramnegativas: *Escherichia coli* (ATCC 25922) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Bacterias grampositivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Las cepas bacterianas fueron proporcionadas por el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.

### Aceites esenciales

Los AE de *Minthostachys setosa* (Muña) y *Citrus maxima* (Pomelo) utilizados en el estudio fueron adquiridos de la empresa Herbolarios Andinos y Amazónicos S.A.C. Fueron obtenidos por el método de destilación por arrastre de vapor.

### Identificación y cuantificación de los principales componentes químicos de los AE

Se realizó usando un cromatógrafo de gases (Agilent 7820 A) acoplado a un espectrómetro de masas (CG-EM). Se usó una columna de 30 m x 0,32 mm x 0,25  $\mu\text{m}$  (Agilent HP-5). La temperatura de la columna se mantuvo a 50 °C durante el primer minuto y se incrementó gradualmente a 3 °C/min hasta alcanzar 200 °C. Se inyectó un volumen de 1  $\mu\text{L}$  de las muestras disueltas en cloroformo al 1 %, utilizando inyección tipo *split* en proporción 50:1. El gas portador fue helio con un flujo de 1 mL/min, y la detección se realizó a 220 °C. Los ensayos se llevaron a cabo en el Instituto de Ciencias Exactas de la Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.



## Características organolépticas y propiedades fisicoquímicas de los AE

Las propiedades organolépticas de los AE evaluadas fueron color, olor, sabor y aspecto. Además, se determinaron las propiedades fisicoquímicas, como densidad a 20 °C, pH e índice de refracción, siguiendo los métodos estandarizados establecidos por la AOAC (2006).<sup>(7)</sup>

## Actividad antibacteriana de la mezcla de los AE

La actividad antibacteriana se determinó usando el método de difusión en agar, con discos de papel de aproximadamente de 6 mm.<sup>(8)</sup> Los inóculos bacterianos se prepararon a partir de cultivos de 24 h de crecimiento en agar nutritivo. De este cultivo se seleccionaron 3 a 5 colonias para inocular en caldo nutritivo, hasta alcanzar la turbidez correspondiente al tubo 0,5 de McFarland.<sup>(9)</sup> Seguidamente se sembraron en placas Petri con agar Mueller Hinton y se colocaron los discos impregnados con 10 µL de cada aceite esencial y de sus mezclas binarias. Se emplearon discos de ciprofloxacino (30 µg) como antibiótico patrón. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h, y los halos de inhibición se midieron utilizando un calibrador digital (Vernier).

## Análisis estadístico

Los resultados de la actividad antibacteriana se expresan como media  $\pm$  desviación estándar. Para estos datos, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey para comparar las medias con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), utilizando el software IBM-SPSS v. 22.

# RESULTADOS

## Identificación y cuantificación de los principales componentes químicos de los AE

En la figura 1 se muestran los componentes predominantes del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys setosa*. La pulegona fue el principal, con un 80,4 %, seguida por  $\beta$ -cariofileno con un 6,1 %, linalool con 3,1 %, biciclogermacreno con 1,9 % e isopulegona con 1,7 %.



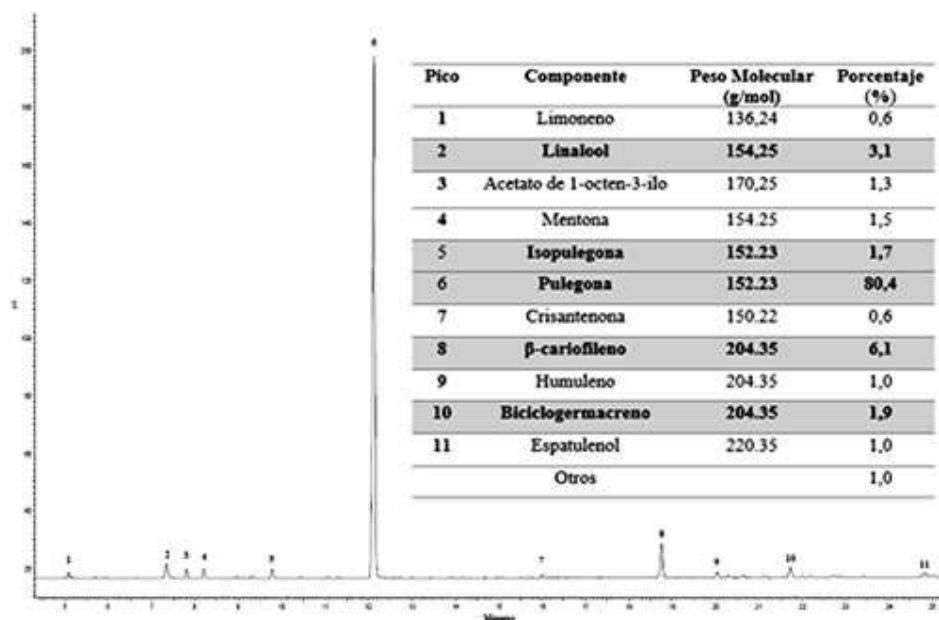


Fig. 1 - Cromatograma GC-MS de los componentes del aceite esencial de *Minthostachys setosa*.

En la figura 2 se muestra el cromatograma de los componentes predominantes del aceite esencial extraído de las hojas de *Citrus maxima*. El limoneno se destaca como el componente principal; representa el 30,3 %, seguido por  $\beta$ -pineno con un 29,6 %, E- $\beta$ -ocimeno con un 10 %, citronelal con un 3,3 % y mirceno con un 3,2 %.

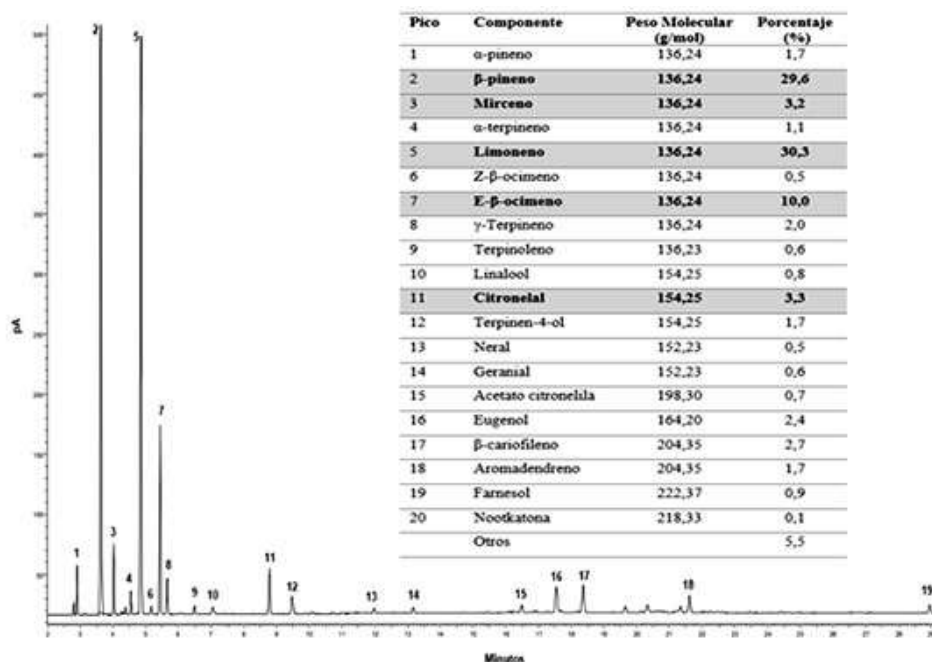


Fig. 2 - Cromatograma GC-MS de los componentes del aceite esencial de *Citrus máxima*.

### Características organolépticas y propiedades fisicoquímicas de los AE

La tabla 1 muestra el resultado de la determinación de las características organolépticas y fisicoquímicas de los aceites usados en la presente investigación.

Tabla 1 - Características organolépticas y fisicoquímicas del aceite esencial de *Minthostachys setosa* y *Citrus maxima*

Características	<i>Minthostachys setosa</i>	<i>Citrus maxima</i>
<b>Características organolépticas</b>		
Color	Amarillo pálido y translúcido	Amarillo pálido
Olor	Intenso mentolado	Cítrico potente
Sabor	Picante y fresco	Ligeramente amargo
Aspecto	Líquido fluido	Líquido fluido
<b>Características fisicoquímicas</b>		
pH	5,2	5,4
Densidad (20 °C)	0,914g/ mL	0,821g/ mL
Índice de refracción (20 °C)	1,4856	1,4739



El aceite de muña (*Minthostachys setosa*) presenta un color amarillo pálido y translúcido, olor intenso mentolado; al mismo tiempo, sabor picante y fresco. El aceite de pomelo (*Citrus maxima*) presenta un color amarillo pálido, olor cítrico potente y sabor ligeramente amargo.

Las características fisicoquímicas mostraron un pH de 5,2, una densidad de 0,914 g/mL a 20 °C y un índice de refracción de 1,4856 a 20 °C para el aceite esencial de muña (*Minthostachys setosa*). Para el pomelo (*Citrus maxima*) se obtuvo un pH de 5,4, una densidad de 0,821 g/mL a 20 °C y el índice de refracción de 1,4739 a 20 °C.

### Actividad antibacteriana de la mezcla de los AE

Los resultados de la medición de los halos de inhibición de los AE puros (1 y 9) y los halos de las mezclas binarias de los aceites (2-8) se observan en la tabla 2.

**Tabla 2** - Halos de inhibición de las mezclas de AE de *M. setosa* y *C. máxima* de acuerdo con el método de Kirby-Bauer sobre cepas de las bacterias ATCC seleccionadas

N° mezcla	<i>M. setosa</i> / <i>C. máxima</i>	Halos de inhibición (mm)			
		<i>S. mutans</i> ATCC 25175	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853
1	0/100	8,77 ± 0,96 <sup>a</sup>	6,03 ± 0,06 <sup>b</sup>	6,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	6,53 ± 0,46 <sup>b</sup>
2	6/94	6,47 ± 0,57 <sup>b</sup>	6,07 ± 0,12 <sup>b</sup>	6,50 ± 0,35 <sup>b</sup>	6,60 ± 0,17 <sup>b</sup>
3	13/87	6,07 ± 0,06 <sup>b</sup>	6,03 ± 0,06 <sup>b</sup>	6,07 ± 0,06 <sup>b</sup>	7,17 ± 0,72 <sup>b</sup>
4	25/75	8,40 ± 0,26 <sup>a</sup>	6,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	6,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	6,03 ± 0,06 <sup>b</sup>
5	50/50	8,77 ± 0,25 <sup>a</sup>	6,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	6,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	7,97 ± 1,10 <sup>a</sup>
6	75/25	9,17 ± 0,91 <sup>a</sup>	7,00 ± 0,69 <sup>b</sup>	7,13 ± 0,60 <sup>b</sup>	8,50 ± 0,46 <sup>a</sup>
7	87/13	6,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	6,53 ± 0,29 <sup>b</sup>	7,07 ± 0,35 <sup>b</sup>	7,53 ± 0,95 <sup>a</sup>
8	94/6	12,83 ± 2,90 <sup>c</sup>	7,57 ± 0,42 <sup>a</sup>	7,80 ± 0,34 <sup>b</sup>	14,77 ± 0,40 <sup>c</sup>
9	100/0	11,87 ± 0,64 <sup>c</sup>	6,43 ± 0,38 <sup>b</sup>	7,40 ± 0,62 <sup>b</sup>	14,47 ± 1,17 <sup>c</sup>
Ciprofloxacino (30 µg)		31,35 ± 3,74 <sup>d</sup>	6,00 ± 0,00 <sup>b</sup>	39,25 ± 0,07 <sup>c</sup>	47,00 ± 0,00 <sup>f</sup>

Diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ , según la prueba de Tukey).

En la tabla 2 se muestran los halos de inhibición del aceite de *M. setosa* (mezcla 9) sobre *S. mutans* y *P. aeruginosa*, que fueron 11,87 y 14,47 mm respectivamente. Ninguna de las cepas evaluadas mostró susceptibilidad frente al aceite de *C. maxima* (mezcla 1).



Los halos de inhibición generados por la mezcla 8, compuesta por 94 % de *M. setosa* y 6 % de *C. maxima* para *S. mutans* y *P. aeruginosa* fueron 12,83 y 14,77 mm respectivamente; mostraron incremento en comparación con los aceites puros. Esto sugiere sinergismo, sobre todo para la actividad del aceite esencial de *C. máxima*, que individualmente no presentó una buena actividad antibacteriana.

## DISCUSIÓN

*Senatore S*<sup>(10)</sup> reporta 50 componentes en el AE de *Minthostachys setosa* procedente de Lima, Perú; los predominantes son pulegona (47,4 %) y mentona (25,3 %). *Oualdi O* y otros<sup>(11)</sup> analizan el aceite esencial de *Mentha pulegium* L. (especie de la misma familia que *Minthostachys setosa*), de origen marroquí e identifican a la pulegona (74,88 %) como su componente mayoritario. Diversos estudios muestran que la composición química de los AE varía según la región de cultivo, lo que influye en la presencia y el porcentaje de sus principales constituyentes.

Los componentes predominantes en el aceite de *C. maxima* son D-limoneno (33,61 %),  $\beta$ -sitosterol (17,99 %),  $\alpha$ -sitosterol (12,19 %), estigmasterol (5,22 %) y  $\alpha$ -pineno (4,32 %) según *Visakh V* y otros.<sup>(12)</sup> *Badalamenti F* y otros<sup>(13)</sup> reportan D-limoneno (32,42 %) como componente principal, seguido de  $\beta$ -pineno (13,99 %) y  $\alpha$ -citral (8,50 %). Por su parte, *Hardjono H* y otros<sup>(14)</sup> indican un contenido de limoneno del 90,43 %, notablemente superior al encontrado en el presente estudio, que, aunque el limoneno también predomina, alcanza únicamente el 30,3 %.

Los AE contienen entre 20 y 60 componentes, pero se caracterizan por 2 o 3 principales en altas concentraciones (20-70 %), mientras que los demás están en niveles bajos. Su composición varía según la parte y especie de planta; sus compuestos provienen principalmente de terpenos y terpenoides, como ésteres aromáticos, alifáticos y compuestos fenólicos. Un aspecto relevante de los AE y sus componentes es su hidrofobicidad, que les facilita interactuar con los componentes de la membrana celular de las bacterias y aumentan su permeabilidad al alterar estructuras celulares. Esto eventualmente provoca la muerte celular bacteriana, debido a la salida de moléculas e iones críticos presentes en la célula bacteriana. Se sabe que, algunos compuestos regulan la resistencia a



los antibacterianos al intervenir sobre los mecanismos de eflujo en varias especies de bacterias gramnegativas.<sup>(15)</sup>

Los AE suelen tener una densidad menor que la del agua. Son líquidos aromáticos, volátiles, claros, liposolubles, poco coloreados y solubles en disolventes orgánicos. Contienen hidrocarburos, alcoholes, cetonas, aldehídos, éteres, óxidos, ésteres y otros; y solo unos pocos poseen un único componente en un alto porcentaje, por lo que difieren mucho en sus olores, índices de refracción, propiedades ópticas y de rotación específica. Entre los AE, la temperatura, las condiciones edáficas, la altitud y la región de cultivo son las principales causas de las variaciones de las características organolépticas y fisicoquímicas.<sup>(16)</sup>

Diversas investigaciones evidencian que la bioactividad de un aceite esencial depende de la estructura química de sus componentes, las interacciones entre ellos y las proporciones en que se encuentran presentes.<sup>(17)</sup>

Los resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana mostraron para *S. mutans* halos entre 9,17–12,83 mm; para *P. aeruginosa*, halos entre 8,50–14,77 mm frente a las mezclas de los AE de *M. setosa* y *C. maxima*, mientras que *E. coli* y *S. aureus* fueron menos sensibles. Mahboubi M y otros<sup>(18)</sup> reportan resultados similares al analizar el aceite esencial de *Mentha pulegium*.

Investigaciones previas han demostrado de forma amplia las bondades antibacterianas inherentes a los AE y sus constituyentes.<sup>(19)</sup> El mecanismo de acción antibacteriano está ligado al tipo de AE o a la cepa microbiana. Se conoce que, a diferencia de las bacterias gramnegativas, las grampositivas son más susceptibles a los AE.<sup>(20)</sup> Esto se puede atribuir a que las bacterias gramnegativas cuentan con una membrana externa más compleja y rígida, rica en lipopolisacárido (LPS), lo que dificulta la difusión de compuestos hidrófobos a través de ella; mientras que las bacterias grampositivas no poseen esta membrana para resistir a las pequeñas moléculas antibacterianas, lo que facilita su ingreso a través de la membrana celular.<sup>(21)</sup> Asimismo, las bacterias grampositivas pueden favorecer la infiltración de los compuestos hidrófobos de los AE, debido a la presencia de extremos lipofílicos, cuyo principal constituyente es el ácido lipoteicoico presente en la membrana celular.<sup>(22)</sup>



Varios estudios han demostrado que los constituyentes bioactivos de los AE son capaces de adherirse superficialmente a la célula, para después penetrar la bicapa fosfolipídica de la membrana celular. La acumulación de estos compuestos altera la composición estructural de la membrana celular, lo que puede afectar negativamente el metabolismo y desencadenar la muerte celular.<sup>(23)</sup> En cuanto al sinergismo entre los componentes de los AE, es importante señalar que, la actividad antibacteriana de un AE puede depender de uno o dos de los principales constituyentes, que componen la totalidad del aceite. De acuerdo con el creciente nivel de evidencia, la proporción de los componentes activos primarios puede no ser el único factor responsable de la actividad antibacteriana de los AE, sino que también son importantes las interacciones entre estos y los constituyentes menores presentes.<sup>(19)</sup> *Bassolé B* y otros<sup>(24)</sup> indican que la combinación de eugenol con linalool o mentol presenta mayor sinergia, lo que sugiere que las combinaciones binarias o ternarias potencian la actividad antibacteriana.<sup>(25)</sup> Diversas mezclas binarias de AE muestran interacciones sinérgicas frente a cepas patógenas de *Trichophyton*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Listeria*, *Enterobacter* y *E. coli*.<sup>(26,27)</sup>

La sinergia entre diferentes AE se ha establecido en estudios previos, como el de *Hossain H* y otros,<sup>(28)</sup> quienes evaluaron ocho AE de plantas: eucalipto, árbol de té, albahaca, orégano, canela, mandarina, menta y tomillo. Reportan que la mezcla de orégano y tomillo produce una actividad sinérgica; aumentan la eficacia frente a *A. flavus*, *A. parasiticus* y *P. chrysogenum*. También observan efecto sinérgico en las combinaciones de menta y árbol de té contra *A. niger*, y de tomillo y canela contra *A. flavus*. La combinación de orégano con canela, árbol de té, tomillo o menta potencia la actividad frente a *P. chrysogenum*. De manera similar, las mezclas de orégano y tomillo, canela y tomillo, y orégano y menta, muestran sinergia contra *A. flavus*.

Asimismo, la combinación de menta con aceite de árbol de té mostró un efecto sinérgico contra *A. niger*.

Se observó que la combinación de ciertos aceites genera sinergia debido a la interacción de sus componentes, principalmente porque los patógenos no pueden adquirir fácilmente resistencia a los múltiples componentes de dos o más AE, por lo que el aumento de la actividad antibacteriana es posible y sería ventajosa.<sup>(29)</sup>



El alcance de la presente investigación es el estudio de AE de especies seleccionadas por su uso tradicional y evidencia preliminar de su actividad antibacteriana, con verificación de la actividad sinérgica de sus componentes; aplicación de métodos microbiológicos estandarizados frente a cepas bacterianas de relevancia clínica e incluyendo bacterias grampositivas y gramnegativas. Los resultados podrán orientar futuras investigaciones sobre AE y su potencial actividad antibacteriana sinérgica.

Una limitación del estudio es que los ensayos se realizaron únicamente en condiciones *in vitro*, bajo entornos controlados de laboratorio, lo que no refleja completamente la complejidad de los sistemas biológicos. La actividad antibacteriana se evaluó únicamente para las concentraciones y combinaciones de AE seleccionadas, por lo que otros rangos podrían mostrar resultados distintos. Además, la evaluación se realizó en intervalos de tiempo limitados, por lo que no se considera la actividad a largo plazo de los AE. Asimismo, es importante considerar que la composición química de los AE puede variar según factores como las condiciones de cultivo, método de extracción y almacenamiento, lo que puede influir en su actividad antibacteriana.

En conclusión, la pulegona y el D-limoneno fueron los componentes predominantes para *M. setosa* y *C. maxima*, respectivamente, las características organolépticas y fisicoquímicas de ambos AE se encuentran dentro de los márgenes aceptables. El aceite esencial de *M. setosa* y la mezcla compuesta por 94 % de *M. setosa* y 6 % de *C. maxima* mostraron actividad antibacteriana sobre *P. aeruginosa* y *S. mutans*.

### Agradecimientos

Nuestro más sincero agradecimiento a los responsables del Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por el uso de materiales, reactivos y equipos.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PN, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens [Internet]. *Clin Microbiol Rev.* 2020;33(3):e00181. DOI: 10.1128/cmr.00181-19
2. Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Fazly Bazzaz BS. Review on plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint [Internet]. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019;8:1–28. DOI: 10.1186/s13756-019-0559-6
3. Carpena M, Nuñez-Estevez B, Soria-Lopez A, Garcia-Oliveira P, Prieto MA. Essential oils and their application on active packaging systems: A review [Internet]. *Resources.* 2021;10(1):7. DOI: 10.3390/resources10010007
4. Rossi C, Chaves-López C, Serio A, Casaccia M, Maggio F, Paparella A. Effectiveness and mechanisms of essential oils for biofilm control on food-contact surfaces: An updated review [Internet]. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2022;62(8):2172–91. DOI: 10.1080/10408398.2020.1851169
5. Reichling J. Anti-biofilm and virulence factor-reducing activities of essential oils and oil components as a possible option for bacterial infection control [Internet]. *Planta Med.* 2020;86(8):520–37. DOI: 10.1055/a-1147-4671
6. Carradori S, Di Giacomo N, Lobefalo M, Luisi G, Campestre C, Sisto F. Biofilm and quorum sensing inhibitors: The road so far [Internet]. *Expert Opin Ther Pat.* 2020;30(12):917–30. DOI: 10.1080/13543776.2020.1830059
7. AOAC. *Official Methods of Analysis.* 18th ed. Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists; 2006.
8. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method [Internet]. *Am J Clin Pathol.* 1996;45(4\_ts):493–6. DOI: 10.1093/ajcp/45.4\_ts.493
9. Saïdana D, Mahjoub S, Boussaada O, Chriaa J, Mahjoub MA, Chéraif I, et al. Antibacterial and antifungal activities of the essential oils of two saltcedar species from Tunisia [Internet]. *J Am Oil Chem Soc.* 2008;85(9):817–26. DOI: 10.1007/s11746-008-1251-9



10. Senatore F. Volatile constituents of *Minthostachys setosa* (Briq.) Epl. (Lamiaceae) from Peru [Internet]. *Flavour Fragr J.* 1998;13(4):263–5. DOI: 10.1002/(sici)1099-1026(1998070)13:4<263::aid-ffj738>3.0.co;2-h
11. Oualdi I, Elfazazi K, Azzouzi H, Ouassaid A, Touzani R. Chemical composition and antimicrobial properties of Moroccan *Mentha pulegium* L. essential oil [Internet]. *Mater Today Proc.* 2023;72:3768–74. DOI: 10.1016/j.matpr.2022.09.318
12. Visakh NU, Pathrose B, Narayanankutty A, Alfarhan A, Ramesh V. Utilization of Pomelo (*Citrus maxima*) Peel Waste into Bioactive Essential Oils: Chemical Composition and Insecticidal Properties [Internet]. *Insects.* 2022;13:480. DOI: 10.3390/insects13050480
13. Badalamenti N, Bruno M, Schicchi R, Geraci A, Leporini M, Tundis R, et al. Reuse of food waste: The chemical composition and health properties of pomelo (*Citrus maxima*) cultivar essential oils [Internet]. *Molecules.* 2022;27(10):3273. DOI: 10.3390/molecules27103273
14. Hardjono H, Dewi EN, Lusiani CE, Febriansyah I, Bachtiar RI. D-limonene from orange (*Citrus maxima*) peel extraction as destructive agent of styrofoam waste [Internet]. *IOP Conf Ser Mater Sci Eng.* 2021; 1073(1):012013. DOI:10.1088/1757-899X/1073/1/012013
15. Bhowmik P, Modi B, Roy P, Chowdhury A. Strategies to combat Gram-negative bacterial resistance to conventional antibacterial drugs: a review [Internet]. *Osong Public Health Res Perspect.* 2023;14(5):333–46. DOI: 10.24171/j.phrp.2022.0323
16. Mariod AA. Effect of Essential Oils on Organoleptic (Smell, Taste, and Texture) Properties of Food. In: *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* [Internet]. 2016;131–7. DOI: 10.1016/b978-0-12-416641-7.00013-4
17. Bunse M, Daniels R, Gründemann C, Heilmann J, Kammerer DR, Keusgen M, et al. Essential Oils as Multicomponent Mixtures and Their Potential for Human Health and WellBeing [Internet]. *Front Pharmacol.* 2022;13:956541. DOI: 10.3389/fphar.2022.956541
18. Mahboubi M, Haghgi G. Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil [Internet]. *J Ethnopharmacol.* 2008;119(2):325–7. DOI: 10.1016/j.jep.2008.07.023
19. Abu-Hussien SH, Nasry AR, Samy Z, El-Sayed SM, Bakry A, Ebeed N, et al. Synergistic antimicrobial activity of essential oils mixture of *Moringa oleifera*, *Cinnamomum verum* and



- Nigella sativa* against *Staphylococcus aureus* using L-optimal mixture design [Internet]. *AMB Express*. 2025;15(1). DOI: 10.1186/s13568-024-01797-y
20. Azhdarzadeh F, Hojjati M. Chemical composition and antimicrobial activity of leaf, ripe and unripe peel of bitter orange (*Citrus aurantium*) essential oils [Internet]. *Nutr Food Sci Res*. 2016;3(1):43–50. DOI: 10.18869/acadpub.nfsr.3.1.43
21. Romano KP, Hung DT. Targeting LPS biosynthesis and transport in gram-negative bacteria in the era of multi-drug resistance [Internet]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*. 2023;1870(3):119407. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2022.119407
22. Winkelman WJ. Aromatherapy, botanicals, and essential oils in acne [Internet]. *Clin Dermatol*. 2018;36(3):299–305. DOI: 10.1016/j.clindermatol.2018.03.004
23. Munda S, Pandey SK, Dutta S, Baruah J, Lal M. Antioxidant Activity, Antibacterial Activity and Chemical Composition of Essential Oil of *Artemisia vulgaris* L. Leaves from Northeast India [Internet]. *J Essent Oil Bear Plants*. 2019;22(2):368–79. DOI: 10.1080/0972060X.2019.1602083
24. Bassolé IH, Lamien-Meda A, Bayala B, Tirogo S, Franz C, Novak J, et al. Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination [Internet]. *Molecules*. 2010;15(11):7825–39. DOI: 10.3390/molecules15117825
25. Soulaïmani B. Comprehensive Review of the Combined Antimicrobial Activity of Essential Oil Mixtures and Synergism with Conventional Antimicrobials [Internet]. *Nat Prod Commun*. 2025;20(3):1–22. DOI: 10.1177/1934578X251328241
26. Moussii IM, Nayme K, Timinouni M, Jamaledine J, Filali H, Hakkou F. Synergistic antibacterial effects of Moroccan *Artemisia herba alba*, *Lavandula angustifolia* and *Rosmarinus officinalis* essential oils [Internet]. *Synergy*. 2020; 10(6):100057. DOI:10.1016/j.synres.2019.100057
27. Soulaïmani B, El Hidar N, El Fakir SB, Mezrioui N, Hassani L, Abbad A. Combined antibacterial activity of essential oils extracted from *Lavandula maroccana* (Murb.), *Thymus pallidus* Batt. and *Rosmarinus officinalis* L. against antibiotic-resistant Gram-negative bacteria [Internet]. *Eur J Integr Med*. 2021;43(4):101312. DOI: 10.1016/j.eujim.2021.101312



28. Hossain F, Follett P, Vu KD, Harich M, Salmieri S, Lacroix M. Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food [Internet]. *Food Microbiol.* 2016;53:24–30. DOI: 10.1016/j.fm.2015.08.006
29. Basavegowda N, Baek KH. Synergistic Antioxidant and Antibacterial Advantages of Essential Oils for Food Packaging Applications [Internet]. *Biomolecules.* 2021;11:1267. DOI: 10.3390/biom11091267

### Conflictos de interés

Los autores declaramos no tener ningún conflicto de interés.

### Contribuciones de los autores

Conceptualización: *Víctor Andrés Tapia Puma, Carla del Carpio Jiménez, Hedy Yiyi Espinoza Carrasco.*

Curación de datos: *Mario J. Urrunaga Ormachea, Giancarlo Gutierrez Chavez, Karen Jessica Jordan Quispe.*

Análisis Formal: *Carla del Carpio Jiménez, Mario J. Urrunaga Ormachea.*

Adquisición de financiamiento: *Carla del Carpio Jiménez, Hedy Yiyi Espinoza Carrasco, Mario J. Urrunaga Ormachea.*

Investigación: *Víctor Andrés Tapia Puma, Marly Anai Chavez Vasquez, Karen Jessica Jordan Quispe, Giancarlo Gutierrez Chavez.*

Metodología: *Carla del Carpio Jiménez, Hedy Yiyi Espinoza Carrasco, Mario J. Urrunaga Ormachea.*

Administración del Proyecto: *Carla del Carpio Jiménez.*

Recursos: *Carla del Carpio Jiménez, Hedy Yiyi Espinoza Carrasco, Mario J. Urrunaga Ormachea.*

Visualización: *Hedy Yiyi Espinoza Carrasco, Víctor Andrés Tapia Puma, Karen Jessica Jordan Quispe, Marly Anai Chavez Vasquez.*



Redacción - Elaboración del borrador original: *Carla del Carpio Jiménez, Giancarlo Gutierrez Chavez.*

Redacción - Revisión y edición: *Carla del Carpio Jiménez, Heldy Yiyi Espinoza Carrasco, Mario J. Urrunaga Ormachea, Víctor Andrés Tapia Puma, Marly Anai Chavez Vasquez, Karen Jessica Jordan Quispe, Giancarlo Gutierrez Chavez.*

### **Disponibilidad de datos**

Todos los datos generados en la presente investigación están mostrados en el texto del artículo. Si se requiere más información se puede enviar una solicitud dirigida al autor corresponsal.