

## ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys mollis* Griseb “RUYAQ MUÑA”

### Antibacterial activity of essential oil of *Minthostachys mollis* Griseb “RUYAQ MUÑA”

Mario Carhuapoma Y<sup>1</sup>, Sofía López G<sup>2</sup>, Mirtha Roque A<sup>1</sup>, Billie Velapatiño<sup>3</sup>, Carlos Bell C<sup>1</sup>, Delia Whu W<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratorio de Química Analítica, Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM. <sup>2</sup>Maestría en Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia y Bioquímica – UNMSM. <sup>3</sup>Laboratorio de Investigación y Desarrollo - LID, UPCH.

#### RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “ruyaq muña” frente a *Helicobacter pylori*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las hojas de *M. mollis* se colectaron en el distrito de Huamanguilla (3000-3200 msnm), provincia de Huanta, región Ayacucho. El aceite esencial se obtuvo por destilación con arrastre de vapor de agua. La actividad antibacteriana se determinó por el método de excavación placa cultivo; resultando en orden de sensibilidad, para *S. dysenteriae* 21,41 mm; *H. pylori* 17,07 mm; *S. typhi* 14,25 mm y *P. aeruginosa* 11,45 mm. La concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) para *H. pylori* se determinó por el método de dilución en microplacas, resultando 2 µg/mL. Para las demás bacterias se determinó por el método de dilución, siendo para *S. dysenteriae* 4 µg/mL, *S. typhi* 4 µg/mL, y *P. aeruginosa* 9 µg/mL de CMI y 10 µg/mL de CMB. Los porcentajes de inhibición comparados con ciprofloxacino, fueron: *H. pylori* 177,27; *S. dysenteriae* 126,11; *S. typhi* 63,44 y *P. aeruginosa* 42,29 y comparado con cloranfenicol: *P. aeruginosa* de 225,56; *S. dysenteriae* 171,97; *S. typhi* 135,95 y *H. pylori* 92,86. La densidad del aceite esencial es 0,9029 g/mL, índice de refracción 1,56689 y el porcentaje de rendimiento 2,4 v/p. Se detectó presencia de fenoles, los que validan la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *M. mollis*.

**Palabras clave:** *Minthostachys mollis*, aceite esencial, actividad antibacteriana.

#### SUMMARY

The aim of this study was to determine the antibacterial activity of essential oil *Minthostachys mollis* “ruyaq muña”, against *Helicobacter pylori*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* and *Pseudomonas aeruginosa*. The leaves of *M. mollis* were collected in the district of Huamanguilla (3000-3200 m.s.n.m), Huanta province, Ayacucho region. The essential oil obtained by distillation with water vapor drag. The antibacterial activity was determined by plate culture excavation method, resulting in order of sensitivity, for *S. dysenteriae* 21.41 mm; *H. pylori* 17,07 mm; *S. typhi* 14.25 mm and *P. aeruginosa* 11.45 mm. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) for *H. pylori* were determined by the microplate dilution method, resulting in 2 µg/mL. For the other bacteria was determined by the dilution method, being for *S. dysenteriae* 4 µg/ml, *S. typhi* 4 µg/ mL, and *P. aeruginosa* 9 µg/mL and MIC 10 µg/ml of CMB. The percentages of inhibition compared with ciprofloxacin, were: *H. pylori* 177,2; *S. dysenteriae* 126,11; *S. typhi* 63,44 and *P. aeruginosa* 42,29 and compared with chloramphenicol: *P. aeruginosa* of 225,56; *S. dysenteriae* 171,97; *S. typhi* 135,95 and *H. pylori* 92.86. The essential oil density is 0,9029 g/mL, refractive index 1,56689 and the percentage yield 2.4 v/p. Was showed presence of phenols, which validate the antimicrobial activity of essential oil of *M. mollis*.

**Keywords:** *Minthostachys mollis*, essential oil, antibacterial activity.

#### INTRODUCCIÓN

Actualmente en el mundo moderno la población crece aceleradamente y con ella también las enfermedades como las infecciosas producidas por bacterias, virus, hongos, etc. A pesar que existen muchos antibacterianos para su control o tratamiento, el uso irracional de éstos viene generando resistencia microbiana y otras secuelas. La biodiversidad vegetal ofrece alternativas antibacteriana-

nas; algunas especies con excelentes resultados, debido a sus constituyentes químicos.

Los aceites esenciales son en su mayoría sustancias terpénicas y fenilpropánicas, que se almacenan en tejidos secretores de los órganos vegetales aromáticos. En recientes estudios se ha demostrado la actividad antibacteriana de diversos aceites esenciales, los cuales pueden contener más de 150 componentes<sup>(1)</sup>.

El Perú es conocido como el tercer país mega-

biodiverso del mundo, siendo catalogado por algunos científicos como el segundo o primero, porque posee una extraordinaria riqueza biológica, fuente natural de moléculas bioactivas. La diversidad vegetal peruana llega aproximadamente a unas 50 000 especies detectadas, mientras que todo el continente europeo posee 12 000 especies. Razones nos sobran para maximizar el aprovechamiento sostenible de nuestros recursos naturales, previamente validados científica y tecnológicamente con los respectivos estudios <sup>(1)</sup>.

En cuanto a plantas aromáticas nativas estas son numerosas, una de estas es *Minthostachys mollis* "ruyaq muña", de la que se reporta virtudes terapéuticas en enfermedades de las vías respiratorias y del aparato digestivo, además de cualidades como preservante de alimentos por su propiedad antimicrobiana, entre otras <sup>(2)</sup>.

Por estas consideraciones, se realizó el presente trabajo de investigación cuyo objetivo fue determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "ruyaq muña" frente a *Helicobacter pylori*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en los laboratorios de Microbiología y Química Orgánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – UNMSM y en el Laboratorio

de Investigación y Desarrollo (LID) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se utilizaron bacterias Gram negativas como *H. pylori*, proporcionadas por el LID; *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae* y *Pseudomonas aeruginosa*, proporcionadas por el Instituto Nacional de Salud.

La especie vegetal *M. mollis* fue recolectada en el distrito de Huamanguilla, Provincia de Huanta, Región Ayacucho, ubicado entre 3000 a 3200 msnm.

Se usó la planta fresca y la extracción del aceite esencial se realizó mediante destilación por arrastre con vapor de agua. El aceite obtenido se trató con SO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub> anhidro, para eliminar el exceso de humedad.

### Ensayos

- Determinación de las características organolépticas y propiedades físicas.
- Determinación de la actividad antibacteriana, como concentración mínima inhibitoria (MIC) y concentración mínima bactericida (MBC).

Finalmente, se realizó el tratamiento estadístico de los datos obtenidos, sometiéndolos al análisis de varianza (ANOVA), pero previa transformación  $\sqrt{x + 1}$ , donde X son los valores originales, debido a que éstos no presentaban varianzas homogéneas. Con las variables que mostraron significancia estadística se realizó la comparación de medias mediante el Método de Duncan con la finalidad de identificar las diferencias.

### RESULTADOS

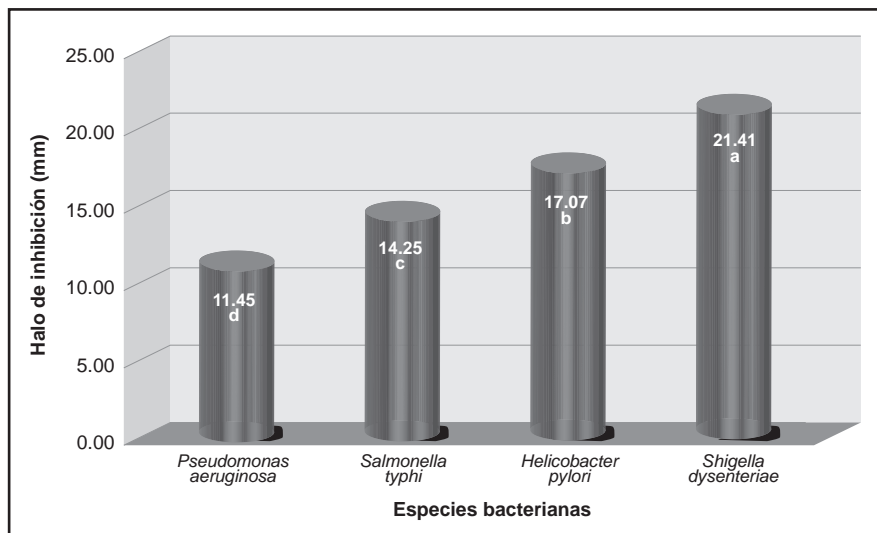
**Tabla 1.** Concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "ruyaq muña".

Concentración del aceite esencial (µg/mL)	Bacterias indicadoras			
	<i>Helicobacter pylori</i> SHI 074 col. 1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
2	CMI-CMB	----	----	----
4	----	----	CMI-CMB	CMI-CMB
9	----	CMI	----	----
10	----	CMB	----	----

CMI: Concentración mínima inhibitoria  
CMB: Concentración mínima bactericida

**Tabla 2.** Halos de inhibición antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "ruyaq muña".

Concentración del aceite esencial (µg/mL)	Bacterias indicadoras			
	S. typhi	S. dysenteriae	H. pylori	P. aeruginosa
4.5	11.77	12.93	13.27	10.00
9.0	12.20	13.93	14.00	10.00
22.5	13.03	15.07	15.07	10.00
45.0	13.47	16.27	15.77	10.27
90.0	13.77	18.13	18.00	11.23
135.0	14.03	20.00	18.00	11.67
180.0	14.20	22.77	18.33	12.33
225.0	15.03	24.90	18.83	12.57
270.0	16.00	32.30	19.90	12.87
450.0	19.03	37.83	19.50	13.53



**Figura 1.** Prueba de Duncan de los halos de inhibición antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "ruyaq muña".

**Tabla 3.** Halos de inhibición de tres antibióticos estándares.

Concentración del aceite esencial (µg/mL)	Bacterias indicadoras			
	S. typhi	S. dysenteriae	H. pylori	P. aeruginosa
Ciprofloxacino 5	11	32	30	30
Cloranfenicol 30	21	6	22	14
Amoxicilina 10	33	ND	ND	ND

ND: no determinado

**Tabla 4.** Características organolépticas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "ruyaq muña".

Propiedades	Características
Color	Ligeramente amarillento translúcido
Olor	Intenso, a mentol y pulegona
Sabor	Picante, fresco persistente
Aspecto	Líquido fluido translúcido

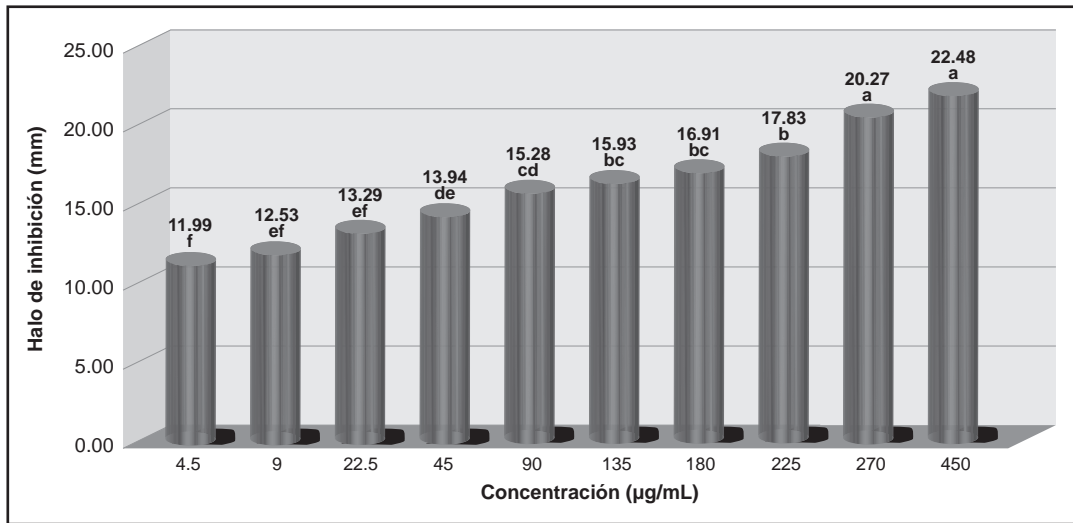


Figura 2. Prueba de Duncan de los halos de inhibición a diferentes concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys mollis*.

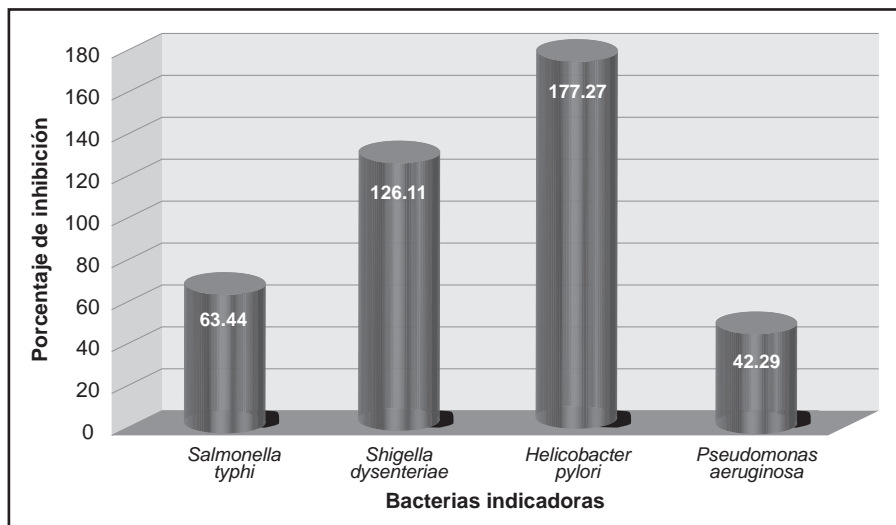


Figura 3. Porcentaje de inhibición de las bacterias indicadoras a la concentración de 450 µg/mL frente a ciprofloxacino.

Tabla 5. Principales constantes físicas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* "ruyaq muña".

Características físicas	
Densidad (20 °C)	0,9029 g/L
Índice de refracción (20 °C)	156,689
Porcentaje de rendimiento	2,4% v/p

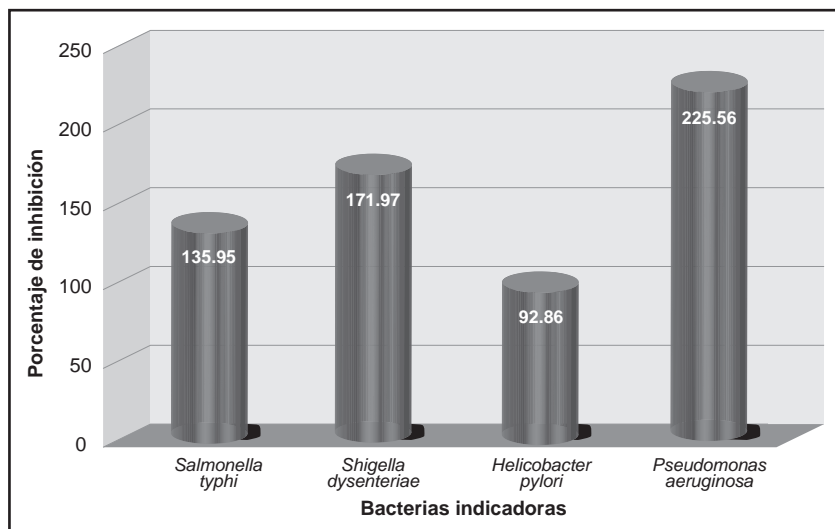


Figura 4. Porcentaje de inhibición de las bacterias indicadoras a la concentración de 450 µg/mL frente a cloranfenicol.

## DISCUSIÓN

En la tabla 1, se muestran los resultados de la CMI y CMB del aceite esencial de *Minthostachys mollis* “ru-yaq muña”, frente a las cuatro bacterias probadas.

Fuertes *et al.* <sup>(2)</sup> reportan para el aceite esencial de *M. mollis* un contenido de 2,14% de timol, 2,12% de acetato de timol y 0,11% de metileugenol. Estos compuestos son de tipo fenólico y posiblemente sean los principales compuestos responsables de la actividad antimicrobiana.

Bergonzelli *et al.* <sup>(3)</sup> concluyen que, el aceite esencial de 30 especies muestran actividad anti-*Helicobacter pylori*, inhibiendo el crecimiento entre 0,7 a 6,3 cm de diámetro a una concentración de 20 a 100 µg/mL y a un pH 7,4; ellos atribuyen que dicha actividad se debe al carvacrol, isoeugenol, nerol, citral y sabineno. La actividad antimicrobiana del aceite esencial de *M. mollis* es superior a estos resultados.

Asimismo, Silva *et al.* <sup>(4)</sup> reportan que, el aceite esencial de *Dittrichia viscosa* subsp. *viscosa* presenta actividad frente al *H. pylori*; dicha esencia inhibe significativamente el crecimiento a las concentraciones de 88,80 a 133,20 µg/mL, resultados que validarían su uso en el tratamiento de la gastritis y, por nuestros resultados podemos afirmar que el aceite esencial de *M. mollis* posee actividad a 2 µg/mL frente *Helicobacter pylori*, por lo que también podría emplearse en el tratamiento de la gastritis.

El-Kamali *et al.* <sup>(5)</sup> ensayaron el aceite esencial de las inflorescencias de *Cymbopogon nervatus* a una

concentración de 5 µg/mL. La máxima actividad fue sobre la *S. dysenteriae*, mas no para *S. typhi*. Se puede observar que, el aceite esencial de *M. mollis* presenta dicha actividad para ambas bacterias a la concentración de 4 µg/mL.

Bassole *et al.* <sup>(6)</sup> reportan que los aceites esenciales de las hojas y flores de *Lippia chevalieri* y *Ocimum canum* muestran actividad frente a *S. dysenteriae*, a una concentración de 5 µg/mL, presentando un halo de inhibición de 9 mm para las hojas y 6 mm para las flores de *L. chevalieri*, mientras que para las hojas de *O. canum* 6 mm, y para las flores 6 mm. Como se puede observar en la figura 1, *M. mollis* presenta un halo de inhibición de 21,41 mm para *S.*

*dysenteriae*.

Acosta *et al.* <sup>(7)</sup> estudiaron la actividad del aceite esencial de *Thymus vulgaris* en *S. typhi* y *P. aeruginosa* mediante el método de excavación placa cultivo. Para el aceite esencial puro en *S. typhi* dio 17 mm; diluido 1/10 presentó 12 mm y bajo la dilución de 1/20 resultó 7 mm. Para *P. aeruginosa*, la esencia pura registró un halo de 20 mm, diluida 1/10 dio 12 mm y 1/20 no presentó inhibición. En la figura 1, *M. mollis* frente a *S. typhi* presenta un halo de inhibición de 14,25 mm y de 11,45 mm para *P. aeruginosa*; estos resultados se aproximan a los obtenidos para el aceite esencial de *Thymus vulgaris*.

Saavedra <sup>(8)</sup> encontró para el aceite esencial de *O. vulgare* actividad parcial frente a *P. aeruginosa*, a las concentraciones de 30 a 35% (p/v). Asimismo, el aceite esencial de *M. mollis* muestra actividad parcial frente a esta bacteria, lo que podría deberse a que dicha bacteria muestra resistencia.

Según Fuertes <sup>(9)</sup> el aceite esencial de *Ocimum micranthum* tiene como componentes principales al metileugenol, cariofileno, β-elemeno y otros 30 compuestos. A una concentración de 1% v/v presentó actividad inhibitoria frente a *Shigella* sp, mostrando resistencia *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*. Este resultado también corrobora la actividad parcial del aceite esencial de *M. mollis*.

En la tabla 2 se muestran los valores promedio de actividad antibacteriana de las 10 concentraciones de aceite esencial probadas sobre cuatro bacterias; donde, en términos generales se observa una tendencia creciente a medida que se incrementa la concentración.

El ANOVA realizado para diez concentraciones del aceite esencial de *M. mollis* frente a las cuatro bacterias muestra la existencia de significancia estadística para ambos factores MIC y MBC. Al realizarse la Prueba de Duncan para las cuatro bacterias (figura 1) se observa que *Shigella dysenteriae* es la que presenta más sensibilidad al aceite esencial con un promedio de 21,41 mm, seguido de *Helicobacter pylori* con 17,07 mm, *Salmonella typhi* con 14,25 mm y la que menos sensibilidad presentó fue *Pseudomonas aeruginosa* con 11,45 mm.

En la figura 2 se observa que a mayor concentración es mayor el efecto inhibitorio; es así que la concentración 450 µg/mL produjo en promedio 22,48 mm de halo de inhibición, mientras que para una concentración de 4,5 µg/mL fue de 11,99 mm.

En la tabla 3 se observan los valores de los halos de inhibición de tres antibióticos utilizados como estándares sobre las cuatro bacterias. Cabe señalar que *Helicobacter pylori* fue la única que se probó con amoxicilina, porque es el fármaco más específico para el tratamiento de esta bacteria.

En la figura 3 se puede observar el porcentaje de inhibición a la concentración de 450 µg/mL de aceite esencial frente a ciprofloxacino sobre las cuatro bacterias, resaltando el hecho que *Helicobacter pylori* muestra mayor valor con 177,27%, seguido de *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los valores presentados para *Helicobacter pylori* se deben a que el estándar causó menor efecto inhibitorio, lo que estaría demostrando que el aceite tiene mayor actividad que el propio estándar; esto posiblemente se deba a que los constituyentes del aceite esencial de *M. mollis*, como el timol, acetato de timol, metileugenol, pulegona, mentona, limoneno, linalol, entre otros, actúan en sinergismo<sup>(2)</sup>.

En la figura 4 se muestra el porcentaje de inhibición a la concentración de 450 µg/mL del aceite esencial frente a cloranfenicol, en el que se puede apreciar que *P. aeruginosa* presentó la menor inhibición en un porcentaje de 225,56%, seguida de *S. dysenteriae*, *S. typhi* y *H. pylori* con valores de 171,97; 135,95 y 92,86%, respectivamente.

En la tabla 4 se muestran las características organolépticas del aceite esencial de *M. mollis*. Según Carhuapoma<sup>(10)</sup> presenta características similares, con el predominio de la fracción oxigenada en 67,77%.

En la tabla 5 se muestran las principales constantes físicas del aceite esencial de muña, asimismo Carhuapoma<sup>(10)</sup> e Inga *et al.*<sup>(11)</sup> presentan valores similares a los encontrados en el presente trabajo.

Por nuestros ensayos y otros trabajos revisados, el aceite esencial de *M. mollis* contiene compuestos fenólicos, entre estos el timol. Además, el extracto contiene gran cantidad de componentes fenólicos, que se confirman por la coloración azul oscura con el reactivo de cloruro férrico y estos serían los principales responsables de la actividad antibacteriana, que según Kuklinski son los compuestos más activos<sup>(12)</sup>.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brack A, Heinz P. Perú Maravilloso. Edit. Epenza. Empresa Periodística Nacional SAC. Lima, 2002.
2. Fuertes C, Murguía Y. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb "muña" de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. Rev. Ciencia e Investigación 2001; VI(1): 23-39.
3. Bergonzelle E, Donnicola D, Porta N, Cortéis-Theulaz E. Essential oils as components of a diet-based approach to management of *Helicobacter* infection. Journal Antimicrob Agents Chemother 2003; 47(10): 3240-6.
4. Silva D, Denham E, Faleiro L, Miguel G, Cavaleiro C, Salgueiro L. Antimicrobial activity of the essential oils of *Dittrichia viscosa* subsp viscosa on *Helicobacter pylori*. Traditional Medicine and Nutraceuticals 2002; 8(1): 680.
5. El-Kamali H, Hamza A, El-Amir Y. Antibacterial activity of the essential oil from *Cymbopogon nervatus* inflorescence. J Phytotherapy Research 2005; 5(76): 446-49.
6. Bassole N, Nebie R, Savadogo A, Ouattara T, Barro N, Traore A. Composition and antimicrobial activities of the leaf and flower essential oils of *Lippia chevalieri* and *Ocimum canum* from Burkina Faso. J of Biotechnology 2005; 4(10): 1156-60.
7. Acosta O, Castro A, Roque M, Félix L. Composición química del aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. "tomillo", por cromatografía de gases-espectrometro de masa GC/MS y análisis de su actividad antimicrobiana. Rev Ciencia e Investigación 2000; 3(2): 6-10.
8. Saavedra R. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Origanum vulgare* "orégano". Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, UNSCH, Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho; 2002.
9. Fuertes C, Roque M, Sosa C, Trujillo N. Constituyentes del aceite esencial de *Ocimum micranthum* wild. y estudio antimicrobiano. Rev. Ciencia e Investigación 1999; 2(1), 11-17.
10. Carhuapoma YM. Plantas medicinales aromáticas nativas de la provincia de Huamanga y sus perspectivas económicas. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico, UNSCH, Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho, 2002.
11. Inga A, Guerra B. Efecto del aceite esencial de

*Minthostachys mollis* (muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud Tesis para optar al título profesional de Químico Farmacéutico, UNMSM, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima, 2000.

12. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega S.A. Barcelona, 2003.

*Manuscrito recibido el: 20/11/2009*

*Aceptado para su publicación el: 23/02/2010*

**Correspondencia:**

*Nombre: Mario Carhuapoma Yance*

*Dirección: Jr. Río Piura N.º 601 – San Luis – Lima*

*e-mail: ciplamt@yahoo.es*