

Efecto antimicrobiano in vitro de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus labill*) y muña (*Minthostachys mollis*)

In vitro antimicrobial effect of essential oil of eucalyptus (*Eucalyptus globulus labill*) and muña (*Minthostachys mollis*)

Jhon Laura-Ticona¹, Alex Danny Chambi-Rodriguez^{2,*} y Joel Jerson Coaquira-Quispe³

Resumen

El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano de 2 fuentes de aceite frente a *Staphylococcus aureus* y *Coliformes Fecales*. Para la extracción el aceite se aplicó el método arrastre de vapor en donde se utilizó 5000g de muestra (muña, Hojas de eucalipto), en lo cual el rendimiento presento: muña 50ml = 0.9268%, eucalipto 52ml = 0.9717%, se le realizo una caracterización fisicoquímica cuyo resultado fue: en aceite de muña: índice de peróxido: 0.75 (Meq/Kg), Índice de Iodo: 6.87 (IV), índice de Acidez: 1.78 (%AGL), Índice de refracción: 1.486 (n), densidad: 0.898 (Kg/L). En hojas de eucalipto: índice de peróxido: 0.68 (Meq/Kg), Índice de Iodo: 8.08 (IV), índice de Acidez: 1.82 (%AGL), Índice de refracción: 1.495 (n), densidad: 0.845 (Kg/L). Se determinó los halos de inhibición en milímetros (mm), con aceite de muña en diluciones a 25, 50 y 75% frente a *Coliformes Fecales*, en donde fue al 25%: 9.7950mm, 50%: 10.7467mm, 75%: 13.2700mm, frente a *Staphylococcus aureus*, al 25%: 9.9600mm, 50%: 10.7408mm, 75%: 13.1533mm; con dilución de aceite esencial de Eucalipto frente a *Coliformes Fecales* al 25%: 12.0983mm, 50%: 13.2900mm, 75%: 14.5875mm; después frente a *Staphylococcus aureus* en 25%: 11.7200mm, 50%: 13.5608mm, 75%: 14.3767. Se consiguió establecer el efecto inhibitorio en 2 fuentes de aceites frente a *Coliformes Fecales* y *Staphylococcus aureus*, por lo cual se concluye que a más dilución del aceite más inhibición microbiana, estas especies ya que cuenta con sus respectivos principios activos como monoterpenos, alcoholes, cetonas y óxidos terpenicos que impiden el crecimiento microbiano.

Palabras clave: Arrastre de vapor, Inhibición microbiana, principios activos, alcoholes y cetonas.

Abstract

The objective of this research work was to evaluate the antimicrobial effect of 2 oil sources against *Staphylococcus aureus* and *Fecal Coliforms*. For the oil extraction, the steam drag method was applied where 5000g of sample was used (muña, Eucalyptus leaves), in which the yield presented: muña 50ml = 0.9268%, eucalyptus 52ml = 0.9717%, a Physicochemical characterization whose result was: in muña oil: peroxide index: 0.75 (Meq / Kg), Iodine index: 6.87 (IV), Acidity index: 1.78 (% FFA), Refractive index: 1.486 (n), density: 0.898 (Kg / L). In eucalyptus leaves: peroxide index: 0.68 (Meq / Kg), Iodine index: 8.08 (IV), Acidity index: 1.82 (% FFA), Refractive index: 1.495 (n), density: 0.845 (Kg / L). Inhibition halos were determined in millimeters (mm), with muña oil in dilutions at 25, 50 and 75% against *Fecal Coliforms*, where it was at 25%: 9.7950mm, 50%: 10.7467mm, 75%: 13.2700 mm, against *Staphylococcus aureus*, 25%: 9.9600mm, 50%: 10.7408mm, 75%: 13.1533mm; with dilution of Eucalyptus essential oil against *Fecal Coliforms* at 25%: 12.0983mm, 50%: 13.2900mm, 75%: 14.5875mm; then against *Staphylococcus aureus* in 25%: 11.7200mm, 50%: 13.5608mm, 75%: 14.3767. It was possible to establish the inhibitory effect in 2 sources of oils against *Fecal Coliforms* and *Staphylococcus aureus*, for which it is concluded that the more dilution of the oil, more microbial inhibition, these species have their respective active principles such as monoterpenes, alcohols, ketones and terpenic oxides that prevent microbial growth.

Keywords: Vapor entrainment, Microbial inhibition, active principles, alcohols and ketones.

Recibido: 11/10/2023

Aceptado: 17/01/2024

Publicado: 31/01/2024

Sección: Artículo original

*Autor correspondiente: adanny@upeu.edu.pe

Introducción

En la actualidad, según datos proporcionados por el Instituto de Conservación Forestal (ICF), la región de Puno, junto con otras como Apurímac, Ayacucho, Cusco y Huancavelica, cuenta con extensas áreas de plantaciones de eucalipto, queñuas y otros tipos de árboles que cubren aproximadamente 4,030 hectáreas. Sin embargo, es importante destacar que, a pesar de esta abundancia de recursos forestales, el eucalipto suele ser transformado principalmente en madera o leña, mientras que sus hojas se desaprovechan y a menudo son incineradas. Paralelamente, la región de Puno es rica en plantas medicinales, como la muña, que,

lamentablemente, también se desaprovechan, a pesar de su potencial para satisfacer necesidades alimentarias y contribuir a la seguridad alimentaria (Vira et al., 2015).

¹Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos, Universidad Peruana Unión, Juliaca, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5720-4595>

²Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos, Universidad Peruana Unión, Juliaca, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0858-0332>

³Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos, Universidad Peruana Unión, Juliaca, Perú. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0906-2860>

Como citar: Laura-Ticona, J., Chambi Rodriguez, A. D., & Coaquira-Quispe, J. J. (2024). Efecto antimicrobiano in vitro de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus labill*) y muña (*Minthostachys mollis*). *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 26(1), 36-45. <https://doi.org/10.18271/ria.2024.586>



Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) Share - Adapt

En cuanto a la cadena alimentaria, enfrentamos una problemática significativa relacionada con el almacenamiento, manejo inadecuado y transporte de alimentos, lo que resulta en pérdidas considerables que afectan tanto la cantidad como la calidad de los alimentos. Esta situación puede tener consecuencias graves para la salud pública, ya que los alimentos contaminados pueden dar lugar a enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), como intoxicaciones alimentarias e incluso casos fatales. De acuerdo con la Organización de Naciones Unidas (ONU), a nivel nacional se registran pérdidas de alimentos contaminados que equivalen a toneladas por año. Esta problemática se debe en gran medida a la presencia de cepas microbianas como *Staphylococcus aureus*, coliformes fecales, *Escherichia coli*, salmonella, shigella, yersinia y otros patógenos que se encuentran de manera natural en el entorno y que se identifican como los principales agentes etiológicos responsables de las ETAs (Vega et al., 2017; Alzamora et al., 2001; Pitarch, 2000).

Para abordar esta situación y garantizar la seguridad alimentaria, es necesario implementar medidas efectivas de control microbiológico. Entre las posibles soluciones se encuentran los aceites esenciales, que son sustancias volátiles con propiedades antimicrobianas. Estos aceites esenciales contienen una variedad de componentes bioactivos, como terpenos oxigenados, alcoholes, fenoles, sesquiterpenos, óxidos terpénicos, flavonoides, resinas y compuestos como la pulegona, mentona, linalol, cariofileno, limoneno e isopoligón, que les confieren su capacidad para proteger, inactivar y conservar los alimentos (Luna et al., 2009).

En un contexto más amplio, se puede hacer referencia al relato bíblico en el libro de Génesis (Génesis 1:29-30), donde se menciona que al principio de la creación, en los jardines habitados por Adán y Eva, se encontraba un aroma amargo y místico que estaba relacionado con la presencia de aceites esenciales.

El objetivo central de este estudio de investigación es evaluar el efecto antimicrobiano de dos especies de aceites esenciales obtenidos mediante el método de arrastre de vapor. Además, se busca establecer el efecto inhibitorio de estos aceites esenciales en diferentes diluciones, que van desde el 25% hasta el 75%, sobre dos tipos de microorganismos específicos: *Staphylococcus aureus* y *coliformes fecales*.

Materiales y métodos

Lugar de ejecución

Se realizó en el Centro de Investigación de Tecnología de Alimentos (CITAL) de la Universidad

Peruana Unión, por otro lado, la extracción del aceite esencial de Muña, Eucalipto se llevó en las instalaciones de Ingeniería Química (UNAP).

Materia prima

Las materias primas que se utilizaron para la extracción del aceite fueron: Muña variedad *Satureja montana ajedrea*, a inicios de florecimiento de color blanco y Eucalipto variedad *Gunni* estas muestras fueron recolectadas a las 14 horas en la Comunidad Huaquina a 2 km de la Provincia de Chucuito Juli, departamento de Puno.

Cepas microbianas

Las cepas microbianas como: *coliformes fecales* y *Staphylococcus aureus* son ampliamente difundidos en la naturaleza para tal efecto, estas cepas como: *coliformes fecales* se obtuvieron en el laboratorio de microbiología de la Carrera Profesional de Ingeniería Ambiental y *Staphylococcus aureus* fue obtenido en el Hospital “Carlos Monje Medrano” en el laboratorio clínico del Área de microbiología, luego se realizó el aislamiento para las pruebas bioquímicas para posterior ser aplicadas en la inhibición de los aceites esenciales.

Materiales e instrumentos de laboratorio

Materiales de laboratorio en uso fue: Tubos de ensayo, Vasos precipitado 100, 250 ml (Pyrex), Matraz de 250 y 500 ml (Pyrex), Placas Petri (Pyrex), Probetas de 100, 250ml (Pyrex), Pipetas 1,5 y 10 ml (Pyrex), Micropipeteador, Micro pipetas (12 Unidades), Espátula, canaletas, Papel filtro, Algodón, gasa y pabulo, Asas de siembra y asa de drigalski, Mechero bunsen, Pinzas metálicas, Gradillas, Discos de papel filtro, Papel craft. Equipos usados: Extractor arrastre de vapor (Inducontrol), Balanza analítica de 0.001 (PIONEER), Autoclave (Jisico-JNA45:13.6), Estufa eléctrica (Samsung-9030B), Incubadora (Binder-Serie 03-43903), Cocina eléctrica. Reactivos: Etanol 96°, Agua destilada finalmente los medios utilizados es: Agar Mueller Hinton: Difco, Agar baird Parker: Difco, Peptona, Agar hierro triple azúcar, Agar hierro lisina, Caldo urea, Agar citrato de Simmons.

Flujograma de extracción de aceite esencial por arrastre de vapor

En la figura 1 se presenta el flujograma para extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus labill*) y muña (*Minthostachys mollis*), en donde se utilizó el extractor por arrastre de vapor de capacidad de 5kg.

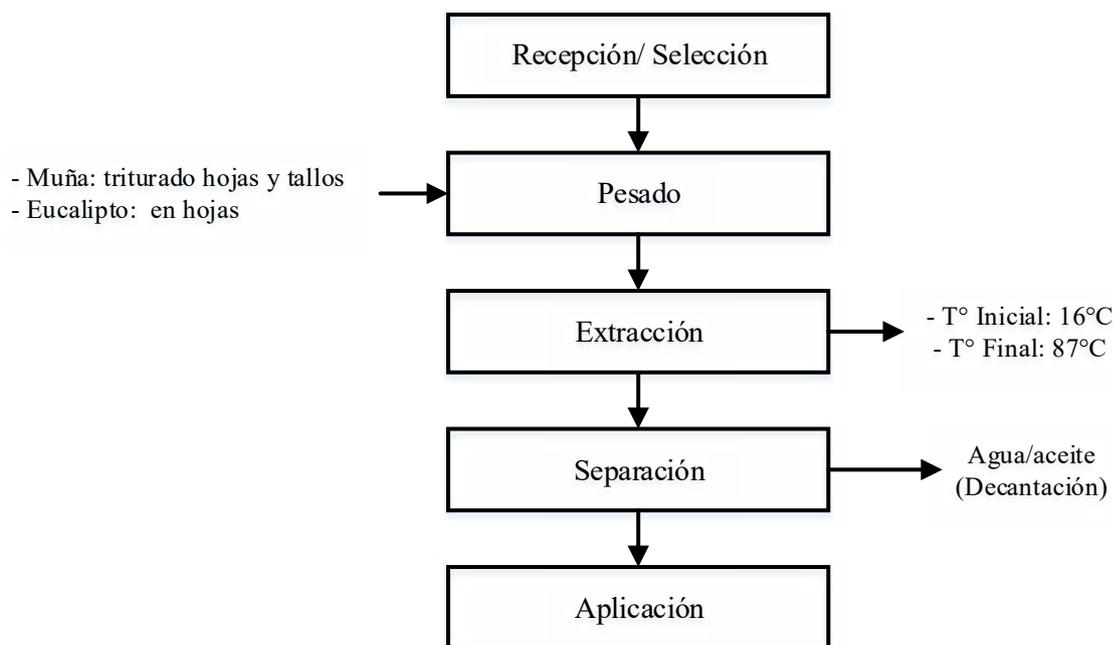


Figura 1. Flujograma de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus labill*); muña (*Minthostachys mollis*)

Descripción del flujograma

Selección: Se eligieron hojas verdes y tiernas de eucalipto de variedades *Gunni* y también se seleccionó hojas y tallos triturados aprox. 3 a 5cm de largo de muña variedad *satureja montana ajedrea*. **Pesado:** Se realizó el peso de las hojas de eucalipto y muña en hojas y tallos verde en una cantidad de 5 kg cada muestra, en una balanza de precisión. **Extracción:** Se procedió a introducir en el extractor una cantidad de 5 kg de cada muestra (muña, eucalipto) durante 3 horas a una temperatura inicial de 17°C y la temperatura final de 187°C. **Separación:** Se utilizó la pera de decantación de 500 ml, en donde se envaso en unos recipientes oscuros de 10 ml, por tanto, gracias a la presencia de la densidad del aceite que se logra la separación inmediata

Determinación del rendimiento del aceite esencial

Para la determinación del rendimiento del aceite esencial de Eucalipto y Muña se procedió a utilizar la siguiente formula:

$$\% \text{Rendimiento} = \frac{M_2}{M_1}$$

Dónde: M_2 = masa del aceite en kg, M_1 = masa de la muestra kg, 100 = Factor matemático

Análisis fisicoquímico del aceite esencial

En análisis fisicoquímico del aceite de Muña y Eucalipto se realizó mediante la metodología presentada en la tabla 1.

Tabla 1. Métodos aplicados para la determinación del análisis fisicoquímico del aceite extraído

ANÁLISIS	MÉTODO
Determinación índice de Peróxido	Método Volumétrico
Determinación índice de Acidez	Método Convencional
Determinación índice de Iodo	Método de Wijs
Determinación índice de Refracción	Método Pfund
Determinación de Densidad	Método Picnómetro (Norma: INV E-222 e INV E-223)

Determinación de la capacidad mínima inhibitoria

Para la determinación de la capacidad Mínima Inhibitoria de los microorganismos en estudio se aplicó el procedimiento que consiste en:

Procedimiento

Se obtuvieron las cepas de coliformes fecales en el laboratorio de microbiología de la carrera profesional de Ingeniería Ambiental de la Universidad Peruana

Unión. Estas cepas se cultivaron en Caldo de Bilis Verde Brillante y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Asimismo, las cepas de *Staphylococcus aureus* se obtuvieron en el hospital “Carlos Monje Medrano”, específicamente en el área de Laboratorio Clínico de Microbiología.

Para la preparación del caldo Peptonado con cloruro de sodio, se tomaron 20 ml en un matraz de 50 ml, los cuales se esterizaron a 120°C durante 15 minutos. Luego, utilizando una asa bacteriológica, se transfirió una porción de las cepas obtenidas en placas de agar Mueller Hinton y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Además, se calentó el medio de agar Mueller Hinton en una cocinilla durante 1 minuto y se sometió a autoclave junto con los materiales necesarios, como placas Petri, tubos de ensayo, pinzas, hisopos y discos de sensibilidad, a 120°C durante 30 minutos. El agar Mueller Hinton se vertió en placas Petri estériles en cantidades aproximadas de 25 ml por placa, permitiendo que el medio se solidificara durante 5 minutos en un entorno estéril.

Tras este periodo, se aplicaron las muestras de coliformes, previamente preparadas en caldo de Bilis Verde Brillante, en 18 placas utilizando hisopos. Para *Staphylococcus aureus*, se realizó una estría en 18 placas Petri utilizando caldo Peptonado. Luego, se colocaron discos de sensibilidad en las placas Petri en

cuatro ubicaciones, asegurando que estuvieran a una distancia no menor de 15 mm y a 1.5 cm del borde de la placa, utilizando una pinza estéril. Se llevaron a cabo diversas diluciones de aceite esencial de muña y eucalipto con alcohol al 25%, 50% y 75%. Estas diluciones se distribuyeron en placas Petri para su aplicación con diferentes concentraciones en los discos, utilizando un micropipeteador con 1 micro litro de la dilución correspondiente. Todos los detalles de las muestras se registraron en las placas Petri que contenían los coliformes fecales y *Staphylococcus aureus*, así como las diferentes concentraciones de aceite esencial (25%, 50%, 75%). Las 36 placas Petri se colocaron en una incubadora a 37°C durante 24 horas. Finalmente, se midieron los halos de crecimiento utilizando un pie de rey, que proporciona resultados en milímetros. Estos datos se registraron para su posterior comparación entre las diferentes concentraciones en los resultados obtenidos.

Análisis estadístico de diseño de bloques completamente al azar (DBCA)

En el siguiente trabajo se aplicó el diseño de bloques completamente al azar, en donde se presenta, 2 bloques como: *coliformes fecales*, *Staphylococcus aureus* y los tratamientos son: aceites esenciales de eucalipto y muña en diluciones 25, 50 y 75%, en un nivel de confianza de 95% y 0.05% de significancia.

Tabla 2. Diseño de bloques completas al Azar

Cepas microbianas	Aceite esencial de muña (<i>Mintostachys mollis</i>)			Aceite esencial de Eucalipto (<i>Eucalyptus</i>)		
	25%	50%	75%	25%	50%	75%
<i>Coliformes fecales</i>	25%	50%	75%	25%	50%	75%
<i>Staphylococcus aureus</i>	25%	50%	75%	25%	50%	75%

Resultados

Rendimiento en la extracción de aceite

La tabla 3, muestra el rendimiento de los aceites de muña y eucalipto en donde se utilizó 5kg de Muña y se obtuvo 50 ml de aceite, 5kg de eucalipto y se obtuvo 52 ml de aceite, por tanto, las hojas de eucalipto presencio mayor rendimiento.

Determinación de análisis fisicoquímico de aceite esencial

Se realizó la caracterización fisicoquímica de los aceites esenciales de Muña y Eucalipto como se aprecia en la tabla 4.

Identificación bioquímica

En la Tabla 5 se presenta las pruebas bioquímicas, para *coliformes fecales* y *Staphylococcus aureus*; en donde cada cepa bacteriana dio positivo para los análisis realizados mostrando así que ambos pueden degradar el azúcar (TSI), (LIA).

Determinación de la capacidad mínima inhibidora del aceite esencial extraído

Coliformes Fecales

La Figura 2, muestra el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento en *coliformes fecales*, el crecimiento de los halos generados en diámetro que

se reportó con aceite de muña en 25% un valor de 9.7950 mm; en 50%, 10.7467 mm; y 75% con 13.2700 mm; respecto al aceite de eucalipto en 25% un valor de 12.0983 mm; en 50% con 13.2900mm; y 75% con 14.5875mm, asimismo en ambos casos con tendencia a subir.

Tabla 3. Rendimiento de la extracción de aceite esencial de muña y eucalipto

Planta Aromática	Rendimiento			Rendimiento (%)
	5000 g	100 g	100 g	
	Volumen (ml)	Volumen (ml)	Volumen (g)	
Muña	50 ± 0,02	10 ± 2,0	9.2366	0.9268
Eucalipto	52 ± 0,10	10,4 ± 0,25	9.3441	0.9717

Tabla 4. Resultados de la caracterización Fisicoquímica del aceite esencial de muña y eucalipto

Muestra de aceite	Índice de peróxido Meq/Kg	Índice de Iodo (IV)	Índice de Acidez	Índice de Refracción	Densidad Kg/L
Muña	0.75	6.87	1.78	1.486	0.898
Eucalipto	0.68	8.08	1.82	1.495	0.845
Valores referenciales					
Muña	0.69 - 0.78	6.5-7.02 ^(c)	1.35-1.79	1.485-1.55	0.85-0.98*
Eucalipto	0.65 - 0.70	8-9	1.52-1.90		

*NTP 319087

Tabla 5. Pruebas Bioquímicas para *Coliformes Fecales* y *Staphylococcus aureus*

Cepa	pruebas bioquímicas				
	^a TSI	^b LIA	Urea	^c C	^d SIM
Coliformes fecales	+	+	+	+	+
Staphylococcus AUREUS	+	+	+	+	+

Nota: ^a Agar Hierro Triple Azúcar; ^bagar hierro lisina; ^cagar citrato de Simmons; ^dsim médium

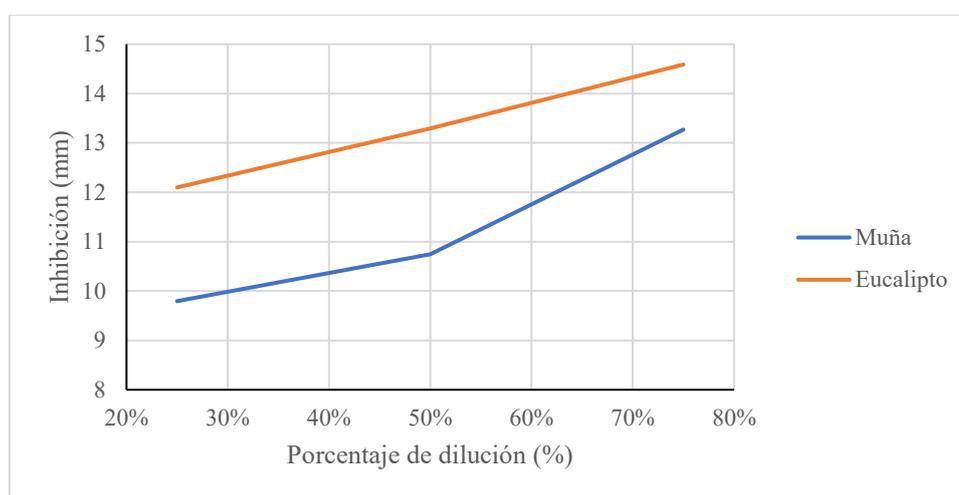


Figura 2. Halos de Inhibición en aceite de Muña y eucalipto en diluciones de 25, 50 y 75% frente a Coliformes fecales

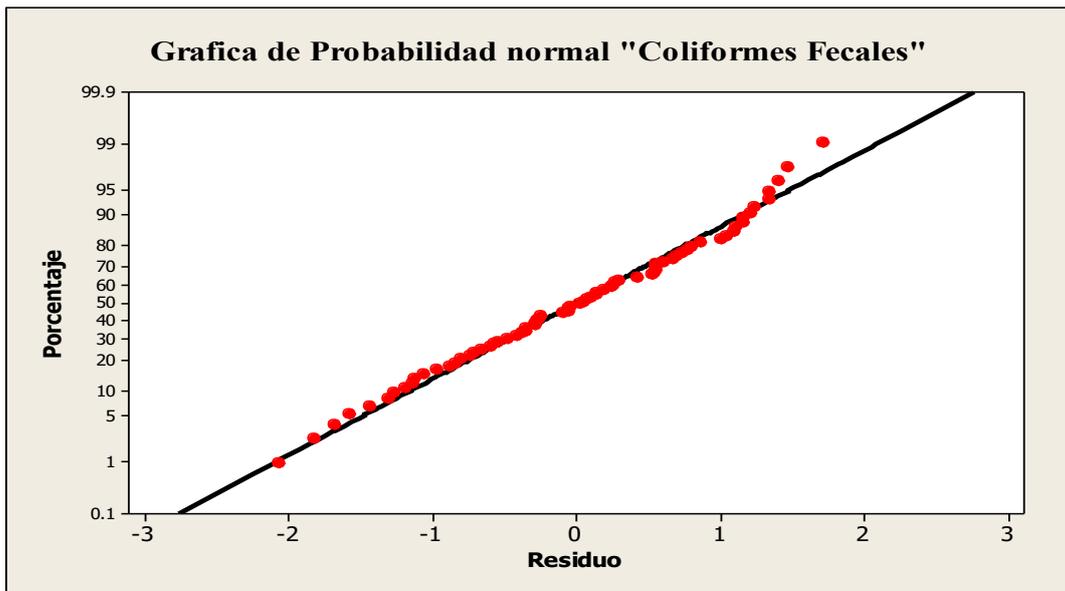


Figura 3. Grafica de Probabilidad normal en "Coliformes fecales"

En la figura 3 se aprecia la gráfica de la probabilidad normal para coliformes fecales, en donde R-Cuadrado presento 74.81% por tanto los puntos presentaron muy cercanas a la línea central.

Staphylococcus aureus

La figura 4, presenta los halos de crecimiento frente a *Staphylococcus aureus* en el aceite de muña presento al 25% 9.9600mm; 50% 10.7408mm; 75% 13.1533mm; en aceite de eucalipto 25% 11.7200mm; 50% 13.5608mm; 75% 14.3767mm.

En la figura 5 se presenta la gráfica de probabilidad normal para *Staphylococcus aureus*, en donde el R-cuadrado presento 77.01% por tanto se afirma que los puntos presentaron.

El efecto inhibitorio en diluciones 25, 50 y 75% de aceite esencial

Análisis de varianza en Coliformes Fecales

En la figura 6 y 7 se aprecia el análisis de varianza de los halos de crecimiento frente a *coliformes fecales* y *Staphylococcus aureus*, en donde se trabajó a un nivel de significancia de 95% con un error de 0.05%, las diluciones de aceites 25, 50, 75% el valor P = 0.000 es significativo; en tipos de aceite el valor P = 0.100 presento no significativo y en *Staphylococcus aureus* en diluciones de aceites el valor P = 0.000 es significativo, en los tipos de aceites presento el valor P = 0.783 no significativo, por otro lado se presenta la prueba de medias en se compara los tipos de aceites.

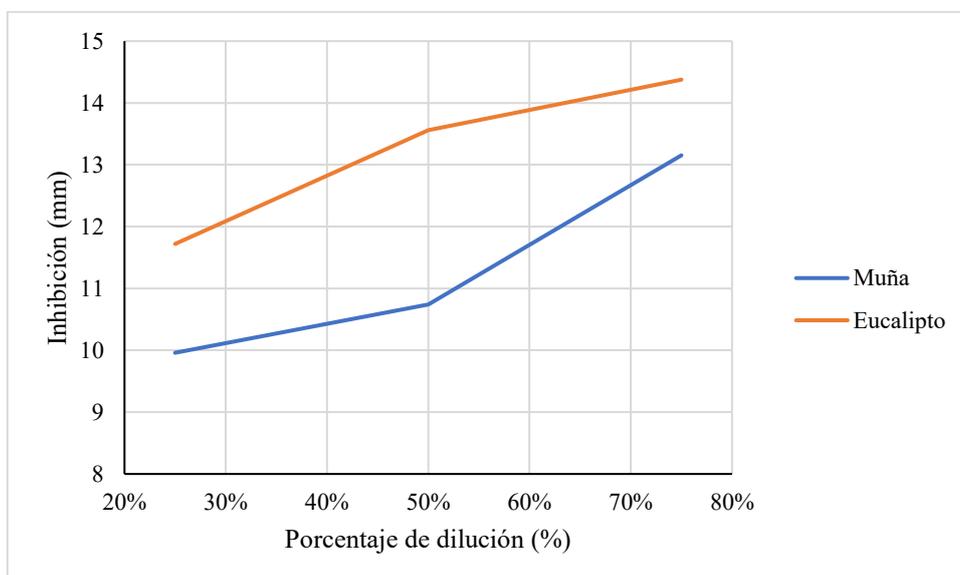


Figura 4. Halos de Inhibición en aceite de Muña y eucalipto en diluciones de 25, 50 y 75% frente a Coliformes fecales

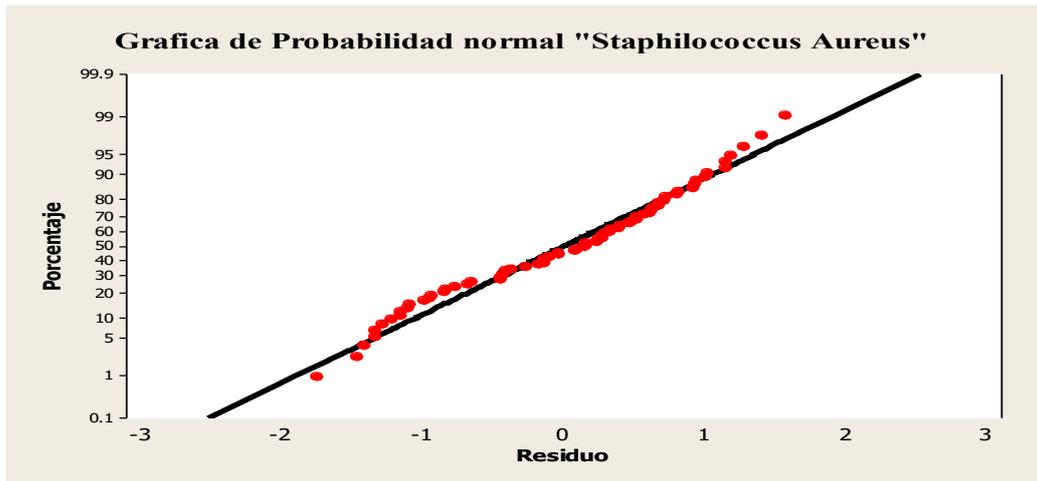


Figura 5. Grafica de Probabilidad normal en "Staphilococcus aureus"

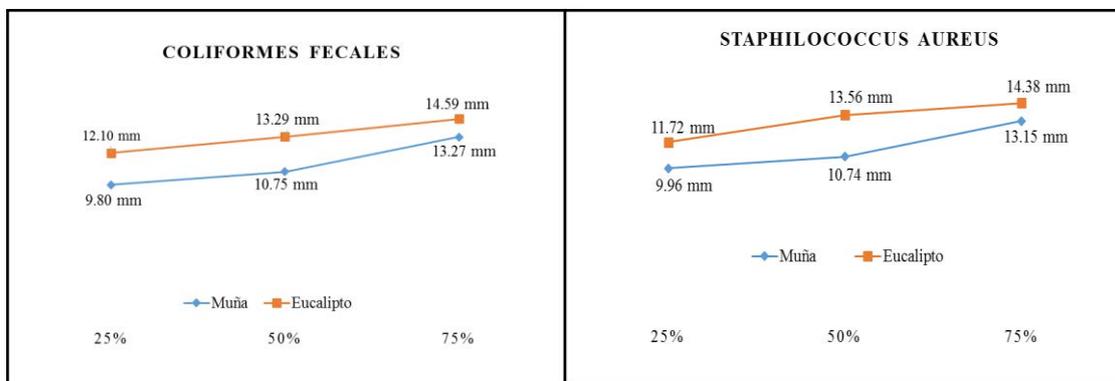


Figura 6. Halos de Inhibición en diluciones de 25, 50, 75% frente a *coliformes Fecales* y *Staphylococcus aureus*

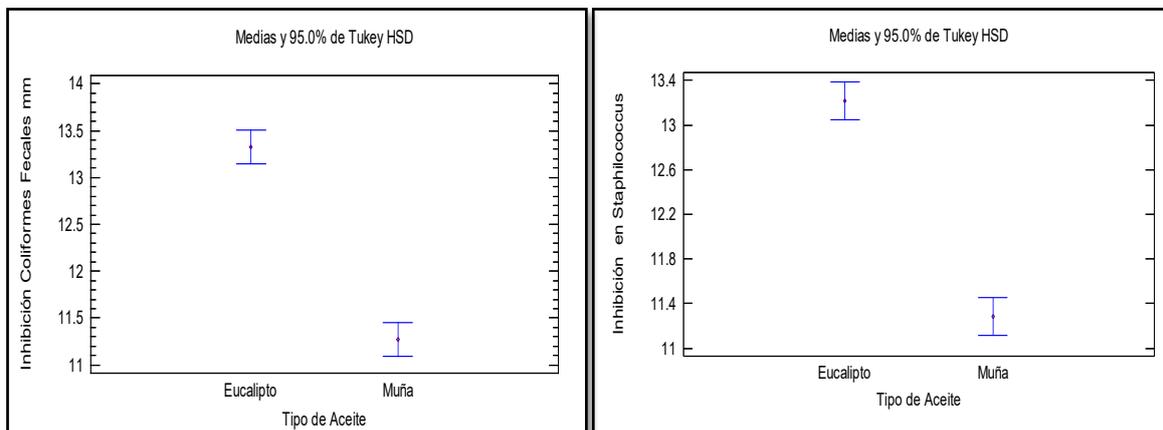


Figura 71. Prueba de medias en Tipos de Aceite (Eucalipto, muña)

Discusión

En la tabla 3 se muestra el rendimiento del aceite esencial de muña en donde presento: 50 ml de 5 kg de masa. Comparados con otras investigaciones el rendimiento obtenido en 2 fue de 20 ml, otros estudios reportan un rendimiento de: 0.9083ml en 100g de masa. Por otro lado, se presenta el rendimiento de aceite esencial de hojas de eucalipto en donde presento 52 ml en 5 kg masa. Comparados con otros trabajos

el rendimiento presento de: 1.02ml en 100g de masa. como también otros investigadores reportaron un rendimiento de 27.33 ml en 5 kg de masa de hojas de eucalipto. Cabe resaltar que el rendimiento depende de las condiciones geobotánicas como: el clima, altitud, tipo de suelo, luminosidad, pluviosidad, temperatura, época de recolección y edad de las plantas por ello la materia prima para este trabajo se recolectó a inicios de florecimiento por tanto se obtuvo mayor rendimiento.

Se aprecia el índice de peróxido en donde se encuentra en una media de 0.75 Meq/kg en muña y 0.68 Meq/kg en eucalipto, confirmando de manera genérica por investigadores quienes afirman que el promedio en muña es de: 0.69 a 0.79 y eucalipto de: 0.65 a 0.70 Meq/kg. Por tanto, si los datos sobrepasan el promedio de Meq/kg (estado de oxidación) esto generaría problemas mínimos en el experimento. Con respecto a la caracterización del índice de Iodo los valores presentan de; muña: 6.87, eucalipto: 0.6. Asimismo, se reporta que el índice de Iodo varía en muña de: 6.5 a 7.02; eucalipto: 8 a 9, dicha variación es debido a que son especies diferentes. Respecto a la caracterización del Índice de acidez como se aprecia en la tabla 4, el promedio en muña es: 1.78; eucalipto: 1.82; asimismo, se presenta el promedio del índice de acidez en los aceites en donde: el aceite de muña: 1.35 a 1.79; eucalipto: 1.52 a 1.90. Afirmando que los datos obtenidos están dentro del rango mencionado, finalmente cabe recalcar, los ácidos libres indican la calidad del aceite. Los resultados de índice de refracción presento en la tabla 4 un promedio de; muña: 0.898; eucalipto: 0.845, por otro lado, se reporta el índice de refracción varía de: 1.485 a 1.55 en los aceites, comprobándose la variación, debido a su especie y la velocidad de propagación de cada masa. Según la NTP: 319087 establecida para aceites esenciales la densidad varía de: 0.85 a 0.98, es preciso mencionar en la tabla 4 se aprecia la densidad en muña; 0.898; eucalipto: 0.845 kg/l, por ello esto debe a la diferencia de especie de cada masa que existe un determinado volumen.

Las pruebas bioquímicas realizadas para *coliformes fecales* y *Staphylococcus aureus* en donde las pruebas se identificaron positivos. Estos resultados también coinciden con otros trabajos en donde el medio LIA, TSI, tienen del contenido de carbohidratos como: glucosa, lactosa y sacarosa, estos azúcares ayudan el incremento de microorganismos por ello los medios tienden a virar de color violeta (TSI) y amarillo (LIA). Con respecto al medio Urea se identificó positivo, las enzimas vienen de ureasa esto libera amoníaco y dióxido de carbono entonces detectan la extensión de microorganismos hasta lograr que el medio vire a color amarillo. Por otro lado el medio citrato de Simmons (C) tiene del cofactor enzimático y fosfato mono-amónico que es fuente de nitrógeno así mismo este medio tiende a virar a color azul. Se describe el medio sim médium (SIM) para *coliformes fecales* y *Staphylococcus aureus*, que se identificó positivo, ya que el medio tiene el contenido de la caseína rico en triptófano y la presencia de tres actividades de tiosulfato sódico, sulfato ferroso de amonio que existe la producción de ácidos y gases que son indicadores de presencia de microorganismo, por tanto, el medio tiende a virar de color negro oscuro.

Además, se reportó que estas bacterias Gram negativas tienen menos resistencia a la acción de los aceites, como resultados de las cadenas alifáticas como los anillos fenólicos de los componentes del aceite. Igualmente se ha reportado que los coliformes son menos sensible entre todas las bacterias evaluadas. La variabilidad de la actividad de estos aceites hacia diferentes cepas microbianas se atribuye a las diferencias cualitativas y cuantitativas en componente de los aceites. Por otro lado, algunos aceites esenciales son capaces de inhibir el crecimiento de varios grupos bacterianos. Esto se debe a los compuestos químicos encontrados en los aceites tales como fenoles isoméricos como el Carvacrol y el timol, el bajo pH de estas moléculas es más disociado e hidrofóbico de las proteínas. Corroborando con que el R-cuadrado es una medida estadística que representa el porcentaje de los movimientos de seguridad, que estos movimientos explican el índice de referencia, por ello el R-cuadrado trabaja de 0 al 100%, en lo cual más cercanos al 0% los puntos están muy lejanos del punto central, entonces cercanos al 100% los puntos tienden estar más cercanos a la línea central. Asimismo, cuando el R-cuadrado tienden a sobrepasar el 65% por ello las pruebas tienden a aceptarse.

Generalmente se ha encontrado que *Staphylococcus aureus* está presente en la piel dañada y alimentos salados, también se reconoce que los aceites esenciales dependen de sus propiedades lipofílicas o hidrofílicas también los tepenoides que sirven como ejemplo agente liposolubles, las cuales afectan la actividad de las enzimas catalizadora a nivel de membrana, ciertos componentes de los aceites actúan como desacopladores, las cuales interfieren en la translocación de protones sobre la membrana. Es por esto que las alternativas al uso de compuestos químicos como los aceites esenciales esto representa una parte importante de la farmacopea tradicional, ya que se registró con mayor actividad antibacteriana, anti fúngica e insecticida que reporta los *Staphylococcus aureus* son de Gram positivos que tienen más resistencia que Gram negativo es por esto que existen diferencias significativas con respecto al tamaño de los halos de inhibición. Adicionalmente existe la afirmación que el uso de los aceites en el sector alimenticio es menudo y limitado debido que las dosis antimicrobianas son eficaces que pueden exceder niveles aceptables, coincidiendo con y el uso de esos aceites esenciales son para líneas farmacéuticas.

Por otro lado, también se evaluó la inhibición y afirmando que el eucalipto tiene el contenido de 95% de cineol, 25% monoterpeno, al igual que quien reporta el contenido de sus principios activos como: 95% de eucaliptol, alfa-pineno, p-cimeno, limoneno, filandreno,

aldehídos, butiraldehído, capronaldehído, azuleno, taninos, resina, flavona, eucaliptina, triterpeno y 4% de ácido ursólico, Asimismo, el eucalipto tiene el contenido de cineol, flavonoides, taninos y ácidos que presenta la acción expectorante antimicrobiana, analgésica, antibacteriana, febrífuga, diurética, cicatrizante, anti reumatismo, vermífuga, antiviral, depurativa, antiséptica.

Conclusiones

El presente estudio, demostró primero que ambas especies de hojas presentan un buen rendimiento en el método aplicado, asimismo, para el caso de la capacidad mínima inhibitoria para ambas cepas el aceite esencial de eucalipto presento mayor capacidad que el aceite de muña, es por eso que los aceites esenciales son fuente importante para la inhibición de bacterias patógenas.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses para la publicación del presente artículo científico.

Referencias

- Alemán, Z., Hernández, B., & Díaz, J. (2004). Control de medios de cultivo con empleo de cepas bacterianas autóctonas como patrones secundarios de referencia. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 42, 0-0.
- Alarcón, M., Pájaro, N., & Méndez, G. (2017). Actividad antibacteriana in vitro de aceites esenciales de diferentes especies del género Citrus. *Artic*, 1-16.
- Alzamora, L., Morales, L., Armas, L., & Fernandez, G. (2001). Medicina Tradicional en Perú, Actividad anti microbiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas. *Artic*, 62(1), 1-5.
- Arcos, J., & Chuquillanqui, J. (2013). Cantidad y Calidad de aceites esenciales en hojas de cuatro especies del género Eucalyptus El Mantaro. Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Barreto, D. (2015). Introducción a MINITAB 15. Puerto Rico, 1-50.
- Baca, C. (2017). Efecto inhibitorio del aceite esencial “muña” (*Minthostachys mollis*) sobre el género Proteus, causantes de infecciones del tracto urinario. Universidad Nacional del Altiplano.
- Cano, C., Bonilla, P., Roque, M., & Ruiz, J. (2008). Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña). *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 25, 298-301.
- Casanova, H. (2017). Statistical Graphing and Data Visualization. *Artículo*, 21(3), 1-23.
- Castañeda, W. (2013). Efecto Inhibitorio in Vitro del aceite esencial “muña” (*Minthostachys mollis*) sobre *Enterococcus faecalis*. Universidad Nacional de Trujillo.
- Castilleja, D., Barrera, E., Medrano, S., Tapia, J., & Peniche, R. (2015). Aislamiento, selección e identificación de levaduras *Saccharomyces* spp. nativas de viñedos en Querétaro, México. *Agrociencia*, 49, 759-773.
- Castro, D., Pantoja, A., & Gomajoa, A. (2017). In vitro evaluation of the antimicrobial capacity of the essential oil of dill (*Anethum graveolens*) as a growth inhibitor of *Staphylococcus aureus*, coliforms, and fungi found in trout meat. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 64(2), 44-51.
- Eriberto, R. (2015). Estudio de los aceites y determinaciones de la actividad antimicrobiana del fruto de *Schinus molles* L. “Molle.” Universidad Nacional Mayor San Marcos.
- Gallegos, V. (2015). Actividad Antimicrobiana in vitro de colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuillee ex Molina) A. gray “Arrayan y *Minthostachys spicata* (Benth.) Epling “Yueaq muña” frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Perú.
- Granados, C., Santafe, G., & Acevedo, D. (2015). Composición química y Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial Folia de *Eucalyptus camaldulensis*. *Artículo*, 235-240.
- Huisa, C. (2016). Caracterización de Aceites esenciales de Eucalipto (*Eucalyptus globulus labill*). *Artículo*, 1-20.
- Ildefonso, V., Peinado, H., Borja, C., Cavero, A., Elera, L., Valdivia, J., et al. (2017). Validación del test rápido de la ureasa para la detección del *Helicobacter pylori* en el Hospital Nacional Cayetano Heredia, Lima, Perú. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 37, 53-57.

- Lipa, F. (2014). Estudio comparativo en el proceso de extracción de aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus globulus labill*) mediante el método de destilación por arrastre de vapor y el método de hidrodestilación asistido por radiación microondas. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.
- Luna, P., Garcia, P., & Lopez, M. (2009). Aceites esenciales: Métodos de extracción. Artículo, 1-9.
- Málaga, V. (2014). Analysis of the diffusion of muña (*clinopodium bolivianum*) Essential oil into water steam. *Ciencia y desarrollo*, 47.55.
- Moreno, J., López, G., & Siche, R. (2010). Modeling and optimization of extraction process of eucalyptus essential oil (*Eucalyptus globulus*). Artículo, 147.
- Narayanan, K. (2009). Isolation and characterization of culturable bacteria from tropical coastal waters. *Ciencias Marinas*, 35(2), 153-167.
- Ochoa, P., Paredes, R., Liz, D., & Justino, R. (2012). Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (*Wiskataya*). *Artic*, 291-302.
- Pitarch, C. (2000). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales. *Artic*.
- Quichca, J. (2017). Grado de eficacia del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) y clorhexidina al 0,12% en la inhibición del crecimiento de *Porphyromonas gingivalis*: estudio comparativo in vitro. Lima 2016". Universidad Privada Norbert Wiener.
- Quispe, D., & Mamani, J. (2016). Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* griseb (muña) sobre microorganismos prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico una – puno 2016". Perú.
- Ramírez, V., Trejo, A., Bustamante, S., & Vargas, A. (2015). Extracción de aceite esencial de Eucalipto y su aplicación como agente antifúngico en un envase activo para conservación de Frambuesa. *Rev Iberoam Tecnol Postcosecha*, 16(2), 228-233.
- Rivera, A., & Ortega, M. (2017). Microbiological conservation of carnic product with essential oils *Eugenia caryophyllata* and *Thymus vulgaris*. *Article*, 1-12.
- Rodríguez, R., & Muñoz, E. (2017). Frecuencia y Susceptibilidad Antimicrobiana de Bacterias Causantes de Mastitis en Bovinos de un Establo de Trujillo, Perú. *Rev Investig Vet del Perú*, 28(4), 994.
- Stashenko, E. (2009). Uso de los aceites esenciales. *Revista*.
- Vega, F., Montenegro, Z., Delgado, M., Alvarez, J., Benavides, A., & Ospina, J. (2017). Evaluación de la capacidad inhibidora de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Articulo*.
- Vásquez, V., Gerardo Salhuana, Jiménez, L., & Abanto, L. (2018). Evaluation of the bacteriological quality of fresh cheeses from Cajamarca. *Ecol Apl*, 17(1).
- Vira, B., Wildburger, C., & Mansourian, S. (2015). Problem Statement: Can Forest and Tree Based Systems Contribute to Food Security and Nutrition. *Artículo*, 9-28.