

Artículo Original

Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* Griseb. “Muña” y *Piper carpunya* Ruiz & Pav. “Pinku”

Antibacterial activity of the essential oils of *Minthostachys mollis* Griseb. “Muña” and *Piper carpunya* Ruiz & Pav. “Pinku”

Kary Gonzales D. ¹, María Elena Salazar S. ², César M. Fuertes R. ³

Recibido: 20/10/2021 Aceptado: 17/12/2021 Publicado: 29/03/2022

Resumen

Las aplicaciones de aceites esenciales que actúan como agentes antimicrobianos se estudian con frecuencia por su capacidad para proteger alimentos contra microorganismos patógenos. Se determinó la actividad antibacteriana mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI), de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* Griseb. “muña” y *Piper carpunya* Ruiz & Pav. “pinku”. La “muña” colectada del distrito de San José de Lourdes-Cajamarca; y el “pinku”, del distrito de Camporredondo-Amazonas. Los aceites esenciales se obtuvieron por destilación por arrastre de vapor a partir de las hojas; siendo la densidad de *M. mollis* 0,886 y de *P. carpunya* 1,023; mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS) se identificaron en “muña” 24 compuestos, siendo los de mayor porcentaje pulegona (40,94%), mentona (32,72%) y limoneno (1,92%); y en “pinku”, 22 compuestos, siendo los de mayor porcentaje el metileugenol (40,49%), safrol (31,24%) e isohomogéno (7,5%). Cada aceite esencial se enfrentaron a microorganismos de interés en la higiene alimentaria: bacterias gram negativas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, y las bacterias gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. Los aceites esenciales de *M. mollis* y *P. carpunya* exhibieron un amplio espectro de acción antibacteriana tanto para bacterias gram positivas como gram negativas, con una CMI, en *M. mollis*, para *S. aureus* 8,86 µg /ml y *E. coli* 70,88 µg /ml y en *P. carpunya*, para *S. aureus* 5,12 µg /ml y *E. coli* 20,46 µg/ml. Se concluye que los aceites esenciales utilizados en este estudio, en bajas concentraciones, poseen actividad antibacteriana contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus*.

Palabras clave: *Minthostachys mollis* “muña”; *Piper carpunya* “pinku”; aceite esencial; actividad antibacteriana.

Abstract

Essential oil applications that act as antimicrobial agents are frequently studied for their ability to protect foods against pathogenic microorganisms. The antibacterial activity was determined by the minimum inhibitory concentration (MIC) of the essential oils of *Minthostachys mollis* Griseb. “muña” and *Piper carpunya* Ruiz & Pav. “pinku”. The “muña” collected from the district of San José de Lourdes-Cajamarca; and the “pinku”, from the Camporredondo-Amazonas district. Essential oils were obtained by steam distillation from the leaves; being the density of *M. mollis* 0.886 and *P. carpunya* 1.023; Using gas chromatography coupled to mass spectrometry (CG-MS), 24 compounds were identified in “muña”, the highest percentage being pulegone (40.94%), menthone (32.72%) and limonene (1.92%); and in “pinku”, 22 compounds, with the highest

¹ Instituto Nacional de Salud. Unidad Dirección Ejecutiva de Medicina Tradicional del Centro Nacional de Salud Intercultural., Lima, Perú.

Autor para correspondencia: kary_vigoda@hotmail.com - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0014-6256>

² Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y Biotecnología “Marco Antonio Garrido Malo”. Lima, Perú.

E-mail: msalazars@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5661-4752>

³ Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Instituto de Investigación de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”. Lima, Perú.

E-mail: cfuertes@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6170-3549>

Citar como:

Gonzales K., Salazar M. y Fuertes C. (2021). Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* Griseb. “Muña” y *Piper carpunya* Ruiz & Pav. “Pinku”. *Ciencia e Investigación* 2021 24(2):21-26. doi: <https://doi.org/10.15381/ci.v24i2.22522>

percentage being methyleugenol (40.49%), safrole (31.24%) and isohomogenol (7.5%). Each essential oil challenged microorganisms of interest in food hygiene: gram-negative bacteria such as *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, and gram-positive bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. The essential oils of *M. mollis* and *P. carpunya* exhibited a broad spectrum of antibacterial action for both gram-positive and gram-negative bacteria, with a MIC, in *M. mollis*, for *S. aureus* 8.86 µg/ml and *E. coli* 70.88 µg/ml and in *P. carpunya*, for *S. aureus* 5.12 µg/ml and *E. coli* 20.46 µg/ml. It is concluded that the essential oils used in this study, in low concentrations, have antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus* bacteria.

Keywords: *Minthostachys mollis* “muña”; *Piper carpunya* “pinku”; essential oil; antibacterial activity.

INTRODUCCIÓN

Existe una relación entre una defectuosa manipulación de los alimentos y la aparición de las enfermedades, debido a esta causa. En esta situación, para prevenir estas enfermedades, la medida más eficaz es la higiénica, para corregir la contaminación de los alimentos¹.

Las enterobacterias están involucradas en las ETAS (Enfermedades Transmitidas por Alimentos); *Escherichia coli* es una bacteria que forma parte de la flora comensal del tracto digestivo, se desarrolla fácilmente en el ambiente y se suele aislar en la contaminación fecal. *Enterococcus faecalis* es también otra bacteria relacionada con la alimentación, esta especie es también uno de los principales patógenos nosocomiales². También se utilizó en el estudio *Pseudomonas aeruginosa*, especie de bacterias gramnegativas, aeróbicas, en forma de bastoncillo, comúnmente aisladas de muestras clínicas (heridas, quemaduras e infecciones del tracto urinario) distribuyéndose ampliamente en el suelo y el agua causando contaminación en los alimentos, y también es uno de los principales agentes de infección hospitalaria³. Es importante para el estudio clínico y epidemiológico, las intoxicaciones originadas por microorganismos productores de toxinas y por agentes invasivos, *S. aureus* es un ejemplo de microorganismos productores de toxinas, tienen un periodo de incubación de 1 a 6 horas y se caracterizan por molestias gastrointestinales altas, como las náuseas y vómitos⁴.

Piper carpunya Ruiz & Pav (sin. *Piper lenticellosum* C.D.C.) es un arbusto perenne perteneciente a la familia botánica Piperaceae, ampliamente distribuido en la zona amazónica de Colombia, Ecuador y Perú⁵. Tradicionalmente, las especies aromáticas de *Piper* se utilizan ampliamente en América Latina para las preparaciones tradicionales (en decocciones o aplicación directa)^{5,6}.

Minthostachys mollis Griseb, es una especie vegetal aromática, también conocida con el nombre común de “muña”, biosintetiza un aceite esencial con propiedad antioxidante y antibacteriana. Esta especie es oriunda de América del Sur, comprende los países: Perú, Bolivia, Venezuela, Ecuador y Argentina, utilizada en medicina popular para tratar los cólicos estomacales y ciertos trastornos gripales^{6,7}.

Actualmente se buscan alternativas para su comercialización y así de esta manera prevenir o evitar el empleo de conservadores químicos, los cuales son causantes de in-

toxicaciones. La utilización de productos naturales con un tratamiento mínimo, está en aumento y la asociación con agentes naturales con propiedad antimicrobianas, siendo los aceites esenciales compuestos que contienen antimicrobianos naturales por lo cual no solo nos brindan seguridad, sino una mejor calidad de los alimentos⁸. Estos aceites esenciales son líquidos hidrófobos de compuestos aromáticos y están presentes en varias partes de la planta como en flores, hojas, cortezas, semillas y raíces. Muchos aceites esenciales de plantas son útiles como potenciadores del sabor o aroma en cosméticos, aditivos alimentarios, jabones, resinas plásticas y perfumes. Así mismo, las aplicaciones de los aceites esenciales que pueden actuar como agentes antimicrobianos está creciendo debido a la amplia gama de actividades⁹, orígenes naturales y el estado generalmente reconocido como seguro GRAS (Generally Recognized as Safe) de los aceites esenciales siendo una sustancia formada por monoterpenos, se utiliza como aditivo alimentario; su comercialización depende de la aprobación por la Food Drug Administration (FDA)¹⁰. Los aceites esenciales se vienen estudiando con frecuencia por sus propiedades antimicrobianas¹¹. La capacidad de los aceites esenciales vegetales para proteger los alimentos contra microorganismos patógenos ha sido reportada por varios investigadores¹².

En la actualidad existe considerable interés en la industria alimentaria por los aceites esenciales derivados de plantas, sobre todo, de la flora nativa del país, las cuales poseen propiedades aromáticas y medicinales, además de controlar el crecimiento de microorganismos patógenos y reducir el impacto de estos en la salud pública, por este motivo se consideró demostrar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* Griseb. “muña” y de *Piper carpunya* Ruiz & Pav. “pinku” frente *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

Los resultados del presente estudio, están vinculados al proyecto de investigación sobre la preparación de las recubiertas y películas alimentarias a base de polisacáridos, para aumentar la vida útil durante el almacenamiento. Este proyecto está a cargo del grupo de investigación Nature UNMSM.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el laboratorio del Instituto de Investigación en Química Biológica, Microbiología y

Biocología “Marco Antonio Garrido Malo” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se utilizaron bacterias ATCC Gram negativas: *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, y las bacterias Gram positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 19433.

La especie vegetal *Minthostachys mollis* Griseb. “muña”, se recolectó en la localidad Villarrica en el distrito de San José de Lourdes, Departamento de Cajamarca a 1750 msnm (78° 53' 30" W) y *Piper carpunya* Ruiz & Pav. “pinku”, en la localidad de Pillías, distrito de Camporredondo, provincia de Luya, Departamento de Amazonas a 1800 msnm (78° 19' 43.3" W). La etapa del muestreo de las especies vegetales se llevó a cabo durante la puesta de sol, para evitar que las altas temperaturas pudieran volatilizar algunos componentes presentes en las muestras. La determinación taxonómica se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional de San Marcos con los siguientes códigos; *Minthostachys mollis* Griseb. “muña” Constancia N°297-USM-2018 y *Piper carpunya* Ruiz & Pav. “pinku” Constancia N°298-USM-2018.

Extracción de los aceites esenciales

Se realizó con el método de arrastre de vapor¹³ en la Unidad de Investigación de Productos Naturales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

El aceite obtenido fue sometido a desecación con sulfato de sodio anhidro (SO₄ Na₂ anhidro), para eliminar el exceso de humedad. Luego fue filtrado con la ayuda de una bomba de vacío, finalmente el aceite se depositó en frascos oscuros cerrados herméticamente para su posterior almacenamiento en refrigeración hasta su uso.

Análisis de aceites esenciales por cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG-MS)

Los aceites esenciales obtenidos fueron analizados en la Unidad de Investigación de Productos Naturales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia los análisis para los 2 aceites esenciales fueron mediante un Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C. Columna: J&W 122-1545.67659 DB-5ms, 325 °C: 60 m x 250 µm x 0.25 µm Rampa de temperatura: empieza en 40 °C y sube a 5 °C/min hasta 180 °C; 2,5 °C/min hasta 200 °C por 5 min y finalmente 10 °C/min hasta

300 °C manteniéndose por 3 minutos. Tiempo de corrida: 54 min Volumen de Inyección: 1 µl Split: 100:1 Gas portador: He, 1 ml/min Muestra: Se diluyó 20 µl de muestra en 1 ml de diclorometano. Determinándose 22 compuestos en “muña” y 24 compuestos en “pinku”.

Determinación de la actividad antibacteriana: Concentración mínima inhibitoria (CMI).

Se realizó de acuerdo al método modificado de Sarker¹⁴. Se utilizó una placa de poliestireno de 96 pozos de fondo tipo plano y estériles para cada bacteria y con los dos aceites esenciales. El inóculo se trabajó a partir de cepas frescas de 24 h de crecimiento en agar TSA, a partir del cual se realizó una suspensión 0,5 en la escala de Mc Farland. Las muestras se ensayaron por diluciones seriadas en concentraciones en el rango de 0,14 -70,88 µg/mL para *M. mollis* y 0,16- 81,85 para *P. carpunya*, obtenidas a partir de una solución madre diluyéndose con Caldo Mueller Hinton (CMH) y polisorbato 80. Se realizaron los debidos cuidados manteniéndose al aceite esencial lejos de la luz. En este método se incluyeron pozos de control de crecimiento (bacterias más CMH), uno de control de esterilidad (CMH), y los de ensayo (bacterias más CMH más aceite esencial). Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado. Se dispensaron las muestras en los pozos de las placas de microdilución a razón de 100 µl del inóculo, que ya tenía incorporado la solución indicadora de resazurina¹⁵. Luego las placas fueron llevadas a incubación a 37 °C por 24 h. La lectura de los resultados se hizo visualmente. El cambio de color de púrpura a rosado o incoloro se registraron como positivos la concentración más baja a la que no se produjo el cambio de color se tomó como el valor de la CMI. Se calculó el promedio por triplicado y se reportó como CMI.

Análisis Estadístico

Todos los ensayos se realizaron por triplicado, los resultados se hicieron en un Excel y se expresaron como la media aritmética en función a la interpretación visual de viabilidad bacteriana.

RESULTADOS

Los aceites esenciales de *M. mollis* “muña” y *P. carpunya* “pinku” obtenidos por extracción por arrastre de vapor presentaron características organolépticas diferentes, detalladas en la Tabla 1, asimismo se determinaron las densidades relativas.

Tabla 1. Características organolépticas de los aceites esenciales de *M. mollis* y *P. carpunya*.

Características Organolépticas	<i>M. mollis</i>	<i>P. carpunya</i>
Color	Ligeramente amarillento	Ligeramente verde
Olor	Aroma similar al mentol	Intenso
Sabor	Picante fresco no persistente	Picante persistente
Aspecto	Líquido fluido y transparente	Líquido fluido translucido
Densidad relativa	0,886	1,023

En el análisis de cromatografía de gases (GC-MS) de *M. mollis* los analitos que se encontraron en mayor proporción fueron pulegona, mentona (23,05 y 20,56) encontrándose en proporciones menores limoneno y carvacrol (16,46 y 26,35) (Tabla 2). En *P. carpunya* en mayor proporción metileugenol y safrol (27,28 y 24,51) y en menor proporción isohomogenol y germacreno B (29,81 y 30,22) (Tabla 3).

Los resultados del ensayo de concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. faecalis* evidenciaron que el aceite esencial de *P. carpunya* presenta una menor CMI frente a *E. coli* y *S. aureus* comparado con *M. mollis*, no se observa actividad antibacteriana para *P. aeruginosa* y *E. faecalis* para ambas especies, se observa en la Tabla 4.

DISCUSIÓN

Las especies *M. mollis* y *P. carpunya*, utilizadas en este estudio forman parte de la flora amazónica del Perú, perteneciente a los usos tradicionales etnomédicos, las especies mencionadas poseen una amplia variedad de compuestos químicos que forman parte de los aceites esenciales, los investigadores proponen que la actividad antimicrobiana es una sinergia entre los componentes principales del aceite, por lo que podría haber más de un mecanismo de acción involucrado⁹; mostrando un amplio espectro entre las bacterias Gram negativas y Gram positivas¹⁶.

Las diferencias organolépticas (Tabla 1) de ambos aceites esenciales principalmente se deben a la presencia de diferentes compuestos terpénicos y fenólicos en *M. mollis* (pulegona, mentona, timol y acetato de timol) y en *P. carpunya* (metileugenol, safrol, isohomogenol y germacreno B)¹⁷.

En cuanto a los resultados de la cromatografía de gases (GC-MS) (tabla 2) para *M. mollis* “muña”, se identificaron 22 compuestos principalmente compuestos terpenos como pulegona, mentona y limoneno que han sido previamente identificados en otros estudios^{18,19} sin embargo en el estudio de Torrenegra²⁰, los compuestos mayoritarios fueron carvacrol y timol, es posible estas variaciones debido al efecto ocasionado por los diferentes factores ambientales sobre el contenido de compuestos en plantas medicinales, lo que hace variar también la intensidad de luz y el fotoperiodo, que varían de región en región, época de recolección y edad de las plantas van afectar la composición de los aceites esenciales^{21,20}.

En la Tabla 3 para *P. carpunya* “pinku”, se identificaron 24 compuestos siendo los compuestos mayoritarios: metileugenol, safrol, isohomogenol y germacreno B a diferencia del estudio de Ballesteros que se presenta en mayor cantidad piperitona, limoneno y elimicino que son monoterpenos oxigenados⁶. Resultados similares a nuestro estudio se obtuvo reportados por De la Cruz quien determinó que los componentes mayoritarios encontrados en el aceite de la misma especie fueron safrol y metileugenol²². Dentro de los fenilpropanoides encontrados en el aceite esencial de *P. carpunya* destacó la presencia de safrol, isosafrole y metileugenol a los obtenidos por Valverde P., quien reportó como principal componente identificado el safrol²³. *P. carpunya* es una especie productora de un aceite esencial que se caracteriza por su alto contenido de safrol²⁴.

Los compuestos terpénicos están involucrados en la desestabilización de la membrana y la pared de las bacterias¹⁰. Y que según Cano et al, refiere que los terpenoides pueden servir como agentes liposolubles, los cuales afectan la actividad de las enzimas catalizadoras a nivel

Tabla 2. Componentes mayoritarios detectados en los aceites esenciales de *M. mollis*

Metabolito	% Abundancia relativa, (t _R , min)	% en las muestras
Pulegona	23,05	40,94
Mentona	20,56	32,72
Limoneno	16,46	1,92
Carvacrol	26,35	0,99

Tabla 3. Componentes mayoritarios detectados en los aceites esenciales de *P. carpunya*

Metabolito	% Abundancia relativa, (t _R , min)	% en las muestras
Metileugenol	27,28	40,49
Safrol	24,51	31,24
Isohomogenol	29,81	7,50
Germacreno B	30,22	6,23

Tabla 4. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales de *M. mollis* y *P. carpunya* frente a *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *E. faecalis*.

Aceite esencial	CMI(µg/ml)			
	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	<i>E.faecalis</i>
<i>M. mollis</i>	8,86	>70,88	70,88	>70,88
<i>P. carpunya</i>	5,12	>81,85	20,46	>81,85

de membrana actuando como desacopladores, produciendo la alteración de la permeabilidad celular, alteración de la respiración, modificación de la detección del quorum bacteriano, fuga de potasio de las células, efectos sobre el potencial de la membrana (translocación de protones) cambios en el gradiente de pH y producción de ATP de la célula bacteriana^{18,25}. También afecta la estabilidad estructural de la membrana y desestabiliza el empaque de la bicapa lipídica¹⁰.

El aceite esencial de *M. mollis* obtenido para este estudio contiene de 0,53% de timol, 0,32% de acetato de timol y 0,39% de metileugenol, compuestos que se reportan en el estudio de Fuertes, además que son compuestos de tipo fenólico y le atribuye a la actividad antimicrobiana^{26,11}. En caso de *P. carpunya* tiene como componente mayoritario al metileugenol con un 40,49%, y que según estos autores los compuestos fenólicos son más activos y son los principales responsables de la actividad antibacteriana^{6,27}.

En la Tabla 4 acerca de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales de *M. mollis* "muña" y *P. carpunya* "pinku", donde *E. coli* y *S. aureus* resultaron susceptibles a la acción antibacteriana del aceite esencial de las especies utilizadas, tal como muestra en el estudio de Torrenegra-Alarcón²⁰ y *S. aureus* fue el microorganismo más sensible tanto para muña como para pinku. Sin embargo, no hay actividad de los aceites esenciales de *M. mollis* "muña", y *P. carpunya* "pinku", frente a *P. aeruginosa* y *E. faecalis* como se muestra en el estudio de Mora RF¹⁹.

No existen muchas publicaciones acerca de *P. carpunya*, cabe señalar que es una planta utilizada en la medicina tradicional²⁸ por lo tanto la importancia de estudiar su actividad antibacteriana como potencial uso en la aplicación de películas funcionalizadas con aceites esenciales para la conservación de alimentos^{29,30}.

CONCLUSIONES

Los aceites esenciales que se obtuvieron por destilación por arrastre de vapor, a partir de las hojas; tanto de *M. mollis* y *P. carpunya* en bajas concentraciones, poseen actividad antibacteriana contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus*. El potencial de utilidad del aceite esencial de *M. mollis* y *P. carpunya* se evidencia considerando los bajos valores del CMI encontrados en este estudio.

AGRADECIMIENTOS

Al Vicerrectorado de Investigación y Postgrado de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por la subvención al GI Nature UNMSM y a la oportunidad como tesista de la Maestría en el proyecto **Biopelículas a base de quitosano y goma natural funcionalizadas con aceites esenciales de *Minthostachys mollis* "muña" y *Piper carpunya* "pinku"** con código A18040761.

Al Dr. Hermes Escalante Añorga (ESCALAB), que en paz descansa, por la donación de las bacterias ATCC utilizadas en este estudio y sus valiosas enseñanzas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Valdiviezo Lugo N, Villalobos de B L, Martínez Nazaret R. Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumaná - Venezuela. Rev la Soc Venez Microbiol. 2006;26(2):95-100.
- Margall N, Domínguez A, Prats G, Salleras L. *Escherichia coli* enterohemorrágica. Rev Esp Salud Publica. 1997;71(5):437-43.
- Keskin ZB, Kahraman H. Effect of calcium on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus* metabolites. Efeito do cálcio nos metabólitos de *Pseudomonas aeruginosa* e *Bacillus cereus*. Brazilian J Biol. 2020;82:1-6.
- Bécquer Lombard A, Leyva Castillo V, Lara Ortiz C, Mota de la Garza L. *Staphylococcus aureus*, Actividad Termonuclear y Enterotoxinas en Alimentos. Rev Cuba Aliment y Nutr. 1997;11(2):89-93.
- Quílez AM, Berenguer B, Gilardoni G, Souccar C, de Mendonça S, Oliveira LFS, et al. Anti-secretory, anti-inflammatory and anti-*Helicobacter pylori* activities of several fractions isolated from *Piper carpunya* Ruiz & Pav. J Ethnopharmacol. 2010;128(3):583-9.
- Ballesteros JL, Tacchini M, Spagnoletti A, Grandini A, Paganetto G, Neri LM, et al. Rediscovering medicinal Amazonian aromatic plants: *Piper carpunya* (Piperaceae) essential oil as paradigmatic study. Evidence-based Complement Altern Med [Internet]. 2019;1-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2019/6194640>
- Carhuapoma M, López S, Roque M, Velapatiño B, Bell C, Whu D. Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb "Ruyaq muña". Cienc Invest [Internet]. 2009 [citado 2 de septiembre de 2021];12(2):83-9. Disponible en: <https://doi.org/10.15381/ci.v12i2.3404>
- Sauceda E. Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. Natural Antimicrobial Agent use in the preservation of fruits and vegetables. Ra Ximhai [Internet]. 2011 [citado 19 de junio de 2021];7(1):153-70. Disponible en: <https://doi.org/10.35197/rx.07.01.2011.14.er>
- Flores-Encarnación M, Nava-Nolazco R, Carreño-López R, Aguilar-Gutiérrez G, García-García S, Cabrera-Maldonado C. The Antibacterial Effect of Plant-Based Essential Oils. Int J Res Stud Biosci [Internet]. 2016;4(12):1-6. Disponible en: <https://doi.org/10.20431/2349-0365.0412001>
- Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. Int J Food Microbiol [Internet]. 2004;94(3):223-53. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- Pandey AK, Kumar P, Singh P, Tripathi NN, Bajpai VK. Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. Front Microbiol [Internet]. 2017;7(JAN):1-14. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.02161>
- Rojas-Graü MA, Avena-Bustillos RJ, Olsen C, Friedman M, Henika PR, Martín-Belloso O, et al. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. J Food Eng [Internet]. 2007;81(3):634-41. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.01.007>
- Lahlou M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phyther Res [Internet]. 1 de junio de 2004 [citado 22 de junio de 2021];18(6):435-48. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ptr.1465>

14. Sarker SD, Nahar L, Kumarasamy Y. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the in vitro antibacterial screening of phytochemicals. *Methods* [Internet]. 2007;42(4):321-4. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2007.01.006>
15. Coban AY, Deveci A, Sunter AT, Palomino JC, Martin A. Resazurin microtiter assay for isoniazid, rifampicin, ethambutol and streptomycin resistance detection in *Mycobacterium tuberculosis*: Updated meta-analysis. *Int J Mycobacteriology* [Internet]. 2014;3(4):230-41. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2014.09.002>
16. Rondón ME, Velasco J, Cornejo X, Fernández J, Morocho V. Chemical composition and antibacterial activity of *Piper lenticillosum* C.D.C essential oil collected in Ecuador. *J Appl Pharm Sci* [Internet]. 2016;6(8):156-9. Disponible en: <https://doi.org/10.7324/JAPS.2016.60824>
17. Trabadelo C, Sánchez-Fidalgo S, Miño P, Berenger B, Quiñez A, Puerta de la R, et al. Gastroprotective Effects of *Piper carpunya* Against Diclofenac-Induced Gastric Lesions in Rats. *Pharm Biol* [Internet]. 2008;46(12):829-37. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/13880200802366686>
18. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (Muña). *Revista Peru Med Exp Salud Pública* [Internet]. 2008;25(3):298-301. Disponible en: <https://doi.org/10.17843/rpmpesp.2008.253.1281>
19. Mora F, Araque M, Rojas L, Ramírez R, Silva B, Usubillaga A. Chemical Composition and in vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb Vaught from the Venezuelan Andes. 2009;1(4):9-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1934578x1501000743>
20. Torrenegra-Alarcón M, Granados-Conde C, Durán-Lengua M, León-Méndez G, Yáñez-Rueda X, Martínez C, et al. The chemical composition and antibacterial activity of essential oil from *Minthostachys mollis*. *Orinoquia* [Internet]. 2016;20(1):69-74. Disponible en: <https://doi.org/10.22579/20112629.329>
21. Peña D, Gutiérrez M. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas. *Rev Cienc y Tecnol*. 2018;13(3):55-66.
22. De la Cruz P. Actividad antimicrobiana, antioxidante y determinación de la composición química mediante Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (CG/EM) de los aceites esenciales de 3 especies de *Piper* nativas del Perú [Para optar el Título Profesional de Químico]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012.
23. Valverde P. Composición química, potencial antimicrobiano y letal de los aceites esenciales de las hojas de Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*), Mastrante (*Ageratum conyzoides*), Guabiduca (*Piper carpunya*), Ajenjo (*Artemisia absinthium*) y Cedrón (*Lippia citriodora*) [Internet]. Universidad Técnica de Machala; 2015. 70 p. Disponible en: [http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2799/6/CD000013-TRABAJO COMPLETO.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/2799/6/CD000013-TRABAJO%20COMPLETO.pdf)
24. Vargas L, Velasco-Negueruela A, Pérez-Alonso MJ, Palá-Paúl J, Vallejo MCG. Essential Oil Composition of the Leaves and Spikes of *Piper carpunya* Ruiz et Pavón (Piperaceae) from Peru. *J Essential Oil Res* [Internet]. 2004 [citado 11 de julio de 2021];16(2):122-3. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2004.9698669>
25. O'Bryan C, Pendleton S, G.Crandall P, Ricke S. Potential of plant essential oils and their components in animal agriculture - in vitro studies on antibacterial mode of action. *Front Vet Sci Front Media SA* [Internet]. 2015;2. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fvets.2015.00035>
26. Fuertes Ruitón C, Munguía Chipana Y. Estudio comparativo del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb «Muña» de tres regiones peruanas por cromatografía de gases y espectrometría de masas. *Cienc Invest*. 2001;4(1):23-39.
27. Castaño HI, Ciro G, Zapata J, Jiménez S. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. *Rev la Fac Química Farm*. 2010;17(2):149-54.
28. Chávez N. La Materia Médica del Incanato. 1ra ed. Mejía Baca, editor. USAAC-Perú; 1977. 426 p.
29. Kuorwel KK, Cran MJ, Sonneveld K, Miltz J, Bigger SW. Essential Oils and Their Principal Constituents as Antimicrobial Agents for Synthetic Packaging Films. *J Food Sci*. 2011;76(9).
30. Vazquez Briones MC, Guerrero Beltrán JA. Recubrimiento de frutas con biopelículas. *Temas Sel Ing Aliment* [Internet]. 2013;5-14. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2014/12/TSIA-72-Vazquez-Briones-et-al-2013.pdf>

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Fuente de financiamiento: Auofinanciado.