

Aceite esencial de sunfo (*clinopodium NUBIGENUM* [kunth] kuntze): extracción, composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana

Sunfo essential oil (*clinopodium nubigenum* [kunth] kuntze):
extraction, chemical composition, antioxidant capacity and
antimicrobial activity

Jaime Orlando Rojas Molina^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-5830-796X>

Jorge Antonio Pino Alea^{2,3} <https://orcid.org/0000-0002-1079-7151>

Edwin Ramiro Cevallos Carvajal¹ <https://orcid.org/0000-0001-7773-860X>

Franklin Antonio Molina Borja¹ <https://orcid.org/0000-0002-6636-403X>

Gabriela Katherine Mena Ayala¹ <https://orcid.org/0009-0006-2745-2682>

Elsa Jackeline Quilumbaquin Toaquiza¹ <https://orcid.org/0009-0000-7543-7977>

¹ Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Sector San Felipe, Latacunga, Ecuador.

² Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, La Habana, Cuba.

³ Instituto de Farmacia y Alimentos, Dpto. de Alimentos, Universidad de La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: jaime.rojas@utc.edu.ec

RESUMEN

Introducción: Las infusiones de la planta de sunfo (*Clinopodium nubigenum* [Kunth] Kuntze) son usadas en la región andina del Ecuador, con la finalidad de regular la temperatura corporal y aliviar ciertas enfermedades respiratorias. Es conocido que la planta sunfo contiene aceite esencial. Aunque se ha investigado sobre la extracción del aceite esencial, es necesario conocer las mejores condiciones del proceso de extracción, además de investigar sobre la

composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana de este aceite.

Objetivo: Caracterizar el aceite esencial de hojas de sunfo en función de la composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana.

Métodos: Para la extracción del aceite esencial de sunfo se utilizó un diseño de superficie respuesta IV Optimo, donde la optimización presentó mejores respuestas en el rendimiento. Los factores evaluados fueron el tiempo de extracción (X_{TIE}) entre 60 y 150 min y la relación material vegetal/agua destilada (X_{RMA}) con valores entre 1:3 y 1:5. El número total de corridas experimentales fue de 17. Al aceite optimizado se evaluó la composición química mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-MS), capacidad antioxidante (ABTS y FRAP) y actividad antimicrobiana (CMI).

Resultados: El aceite esencial obtenido con los parámetros optimizados presentó un rendimiento 1,51 %, valor menor al obtenido mediante optimización numérica. Se encontró como compuestos mayoritarios a la pulegona (44,31 %), mentona (22,05 %) y timol (14,39 %). Se demostró la capacidad antioxidante del aceite esencial por la metodologías de FRAP 190,83 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ y ABTS 0,10 mg/mL este expresado como Cl_{50} . Además se evaluó la actividad antimicrobiana del aceite esencial en función a la concentración mínima inhibitoria, donde se demostró la efectividad contra la *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 39327), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Salmonella enterica*.

Conclusiones: Al aumentar el tiempo de extracción (X_{TIE}) y la relación material vegetal/agua destilada (X_{RMA}) se incrementó el rendimiento del proceso de extracción del aceite esencial. Se comprobó que el aceite esencial de sunfo obtenido con los parámetros optimizados posee propiedades biológicas, mostrando una alta capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana.

Palabras clave: *Clinopodium nubigenum*; aceite esencial; extracción; rendimiento; composición química; capacidad antioxidante; actividad antimicrobiana.

ABSTRACT

Introduction: Infusions of the sunfo plant (*Clinopodium nubigenum* [Kunth] Kuntze) are used in the Andean region of Ecuador, in order to regulate body temperature and alleviate certain respiratory diseases. It is known that the sunfo plant contains essential oil. Although the extraction of the essential oil has been investigated, it is necessary to know the best conditions for the extraction process, in addition to investigating the chemical composition, antioxidant capacity and antimicrobial activity of this essential oil.

Objective: Characterize the essential oil of sunfo leaves based on the chemical composition, antioxidant capacity and antimicrobial activity.

Methods: For the extraction of the essential oil, an IV Optimal response surface design was used, where the optimization presented better performance responses. The factors evaluated were the extraction time (X_{TIE}) between 60 and 150 min and the plant material/distilled water ratio (X_{RMA}) with values between 1:3 and 1:5. The total number of experimental runs was 17. The essential oil obtained with the optimized parameters was evaluated for its chemical composition by gas chromatography-mass spectrometry (CG-MS), antioxidant capacity (ABTS and FRAP) and antimicrobial activity (CMI).

Results: The essential oil obtained with optimized parameters presented a yield of 1.51%, a lower value than that obtained by numerical optimization. Pulegone (44.31 %), menthone (22.05 %) and thymol (14.39 %) were found as the main compounds. The biological activity of the essential oil was demonstrated, obtaining antioxidant capacity by the methodologies of FRAP 190.83 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ and ABTS 0.10 mg/mL expressed as IC₅₀. In addition, the antimicrobial activity of the essential oil was evaluated based on the minimum inhibitory concentration, where the effectiveness against *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 39327), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Salmonella enterica* was demonstrated.

Conclusions: By increasing the extraction time and the plant material/distilled water ratio, the yield of the essential oil from leaves of sunfo was increased. The essential oil obtained with the optimized parameters was found to possess biological properties, showing high antioxidant capacity and antimicrobial activity.

Keywords: *Clinopodium nubigenum*; essential oil; extraction; yield; chemical composition; antioxidant capacity; antimicrobial activity.

Recibido:

Aprobado:

Introducción

El Ecuador posee una alta diversidad biológica y cultural, por lo que se ha convertido en uno de los países con alto potencial de terapéutica tradicional.⁽¹⁾ Solo una pequeña cantidad de la biodiversidad es conocida, donde se ha estudiada a detalle sus propiedades y potencialidades para beneficio de los seres humanos.^(1,2)

El sunfo (*Clinopodium nubigenum* [Kunth] Kuntze) es una planta endémica de los países de Costa Rica, Panamá, Venezuela, Colombia, Perú y Ecuador, que habita en el páramo y montañas de la cordillera. En Ecuador se distribuye en la región sierra en las provincias de: Loja, Azuay, Cañar, Chimborazo, Bolívar, Tungurahua, Cotopaxi, Pichincha, Imbabura y Carchi.⁽³⁾ En las comunidades del páramo andino, es usada con la finalidad de regular la temperatura corporal y aliviar ciertas enfermedades respiratorias. Posee abundante cantidad de taninos, flavonoides, aceite esencial, triterpenos y esteroides.⁽⁴⁾

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles extraídos de las plantas.⁽⁵⁾ Estas mezclas poseen una variedad de actividades biológicas, donde se destaca las propiedades antioxidantes y antimicrobianas. La planta produce metabolitos secundarios que son parte del aceite esencial.⁽⁶⁾ La composición química de aceites esenciales de la misma especie puede variar debido a la genética de la planta, el clima de cultivo, ubicación geográfica y tiempo de cosecha.⁽⁷⁾

La obtención de aceites esenciales por el método de destilación por arrastre con vapor es el más utilizado de forma comercial. En este método se genera vapor de agua en una caldera separada del alambique de destilación. El vapor,

generalmente sobrecalentado, ingresa por la parte inferior del alambique y pasa a través del material vegetal, donde arrastra los compuestos volátiles. ⁽⁸⁾

Varios autores se han enfocado en el estudio de la composición química del aceite esencial de *C. nubigenum*; ^(1, 9) sin embargo, no se detallan las condiciones de extracción y actividades biológicas del aceite esencial.

El presente trabajo tuvo como objetivo optimizar el proceso de extracción del aceite esencial de hojas de sunfo por el método destilación por arrastre de vapor, así como caracterizar su composición, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana.

Métodos

Recolección del material vegetal

Las hojas del sunfo fueron recolectados en su etapa de floración, en la provincia de Cotopaxi, ciudad de Latacunga, parroquia Ignacio Flores (3080 msnm), posteriormente se seleccionó el material vegetal libre de enfermedades o alteraciones morfológicas.⁽¹⁰⁾ Las hojas se cortaron en trozos de aproximadamente 1 cm².

Diseño experimental

Con el programa Design Expert 8.0.6 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE. UU.) se realizó el diseño experimental y procesamiento de los datos de la extracción del aceite esencial de las hojas, donde rendimiento fue la variable de respuesta. La optimización numérica se realizó mediante el diseño de superficie respuesta IV Óptimo. Los factores evaluados fueron el tiempo de extracción (X_{TIE}) entre 60 y 150 min y la relación material vegetal/agua destilada (X_{RMA}) con valores entre 1:3 y 1:5, mientras que el rendimiento fue la variable de respuesta. El número total de corridas experimentales fue de 17.

Optimización de la extracción del aceite esencial

La extracción del aceite esencial se hizo en un equipo de arrastre con vapor modelo LP-10L (Lanphan Ltd., China). Las condiciones de extracción fueron seleccionadas de otras investigaciones similares. ^(11, 12) La mezcla aceite esencial y agua se recogió en un matraz adaptado a un separador, se extrajo el aceite, se secó con sulfato de sodio anhidro, filtró, envasó en frascos de vidrio oscuro y

almacenó en refrigeración. En las condiciones óptimas de extracción del aceite esencial se hicieron tres repeticiones. ⁽¹³⁾

Evaluación del rendimiento del proceso de extracción de aceite esencial

Para establecer las condiciones óptimas del modelo matemático se realizó experimentos a las condiciones establecidas en el diseño de superficie de respuesta. El rendimiento de cada corrida experimental se determinó por la relación entre la masa del material vegetal y la masa del aceite esencial obtenido después de la destilación, relación matemática que se describe en la ecuación 1. ⁽¹⁴⁾

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{(\text{masa del aceite esencial})}{(\text{masa del material vegetal})} \times 100 \quad (\text{ec. 1})$$

Determinación de la composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana del aceite esencial

La composición química del aceite esencial se determinó por GC-MS en un equipo Agilent Technologies 5975. La columna capilar usada fue DB-Wax (J&W Scientific, Folsom, CA, EE. UU.). La temperatura del horno se fijó en 50 °C durante 1 min y luego hasta 320 °C a 4 °C/min e isotérmico a 320 °C por 5 min. Helio como gas portador a 1 mL/min. Para el análisis se preparó una mezcla del aceite esencial con *n*-hexano (1:1) y se inyectó 1 µL. La temperatura de la fuente y conexiones fue 320 °C. Los datos de GC-MS fueron captados a 70 eV usando tiempos de escaneo de 1,5 s en el rango de masa de 40 a 400 amu. Los espectros de masas se compararon con los obtenidos con sustancias patrones y reportados en bases de datos. ^(15, 16)

La capacidad antioxidante del aceite esencial se midió por los métodos de FRAP y ABTS. Para elaborar el reactivo de FRAP se empleó disoluciones de ácido acético-acetato de sodio 300 mM, cloruro férrico 20 Mm, TPTZ (2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina) 10 mM disuelto en ácido clorhídrico 40 mM, la mezcla fue calentada a 37 °C durante 10 min. Para la elaboración de la curva de calibración se utilizó como patrón primario una sal de Mohr. Para la determinación se pesó 1 g de aceite esencial y se mezcló con 0,3 mL de reactivo de FRAP, la mezcla se incubó a 37 °C

por 15 min. Se midió la absorbancia de las muestras y los estándares de la curva de calibración a 593 nm. ⁽¹⁵⁾

La técnica de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazol)-6-sulfónico) se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical causada por la presencia de donantes de hidrógeno o de electrones procedentes de los compuestos fenólicos. ⁽¹⁷⁾ La solución del radical ABTS^{•+} se obtuvo mezclando 5 mL de solución ABTS 7 [mM] con 88 µL de solución de persulfato de potasio 140 mM. Se midieron 100 µL de la muestra y 1 mL de la solución del radical ABTS^{•+}; seguidamente se disolvió en buffer de ácido acético-acetato de sodio (pH 5) hasta alcanzar una absorbancia alrededor de 0,7 a 734 nm. Los resultados se expresaron mediante la construcción de una curva patrón usando como antioxidante Trolox (0 a 200 µmol/L). La capacidad de eliminación de radicales libres se expresó en valores de Cl₅₀ (mg/mL), que representa la concentración necesaria para eliminar el 50 % de los radicales ABTS. ⁽¹⁸⁾

La actividad antimicrobiana del aceite esencial se evaluó con el empleo de cepas bacterianas certificadas. Los microorganismos empleados pertenecen a la colección de la Universidad Técnica de Cotopaxi: *Staphylococcus aureus* (ATTC 25923), *Escherichia coli* (ATTC 25922), *Listeria monocytogenes* (ATTC 19115), *Bacillus cereus* (ATTC 10876) y *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 10145). Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), se preparó un medio de cultivo que contiene agar Mueller-Hinton y una solución de Tween 20, previamente esterilizadas en una autoclave. Con los componentes antes citados, en cajas Petri se elaboró medios de cultivo con concentraciones de aceite esencial de 0; 0,1; 0,5; 1, 3 y 5 %. Con el empleo de una asa de Digrafsky se extendió en la superficie del medio 10 µL de inóculo bacteriano, esto se dejó en una incubadora bacteriológico Biocell modelo M345 por 48 h a 37 °C. El resultado de la CMI correspondió a la concentración más baja del aceite esencial capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. ⁽¹⁹⁾

Resultados

Optimización de la extracción del aceite esencial

Los datos obtenidos mediante un diseño de superficie de respuesta se presentan en la matriz experimental de la Tabla 1, donde se aprecian 17 corridas experimentales de las combinaciones establecidas por el modelo matemático.

Tabla 1 - Matriz experimental para la extracción del aceite esencial de sunfo

Corrida	Tiempo (min)	Relación material vegetal/agua destilada (g/L)	Rendimiento (%)
1	105	1:3	1,22
2	150	1:5	1,49
3	60	1:4	0,84
4	105	1:4	1,01
5	60	1:4	0,86
6	60	1:3	1,02
7	150	1:5	1,31
8	150	1:4	1,39
9	60	1:5	0,63
10	105	1:4	1,00
11	105	1:5	0,83
12	150	1:5	1,30
13	105	1:5	0,81
14	60	1:3	1,01
15	150	1:4	1,37
16	105	1:3	1,22
17	150	1:3	1,48

1:3: 1 parte de material vegetal/3 partes de agua

1:4: 1 parte de material vegetal/4 partes de agua

1:5: 1 parte de material vegetal/5 partes de agua

La Tabla 2 muestra los parámetros codificados para la variable respuesta rendimiento. El modelo matemático se ajustó a una relación lineal que resulto significativo para un nivel de confianza del 95,0 %. La relación material vegetal/agua destilada (X_{RMA}) y el tiempo de extracción (X_{TIE}) para el modelo de rendimiento indicó una relación significativa. El coeficiente de determinación (R^2) indicó que el modelo ajustado explica el 93,8 % de variabilidad del rendimiento.

Tabla 2 - Parámetros del modelo codificado del rendimiento

Indicador	Rendimiento (%)
Intercepto	1,08
X _{TIE}	0,28*
X _{RMA}	0,16*
X _{TIE.RMA}	0,01
R ²	0,938
R ² ajustado	0,924
R ² predicho	0,895
F modelo	65,31*
F falta de ajuste	151,44

X_{RMA}: relación material vegetal/agua destilada; X_{TIE}: tiempo de extracción

*Valor significativo para $p \leq 0,05$; **Valor significativo para $p \leq 0,01$.

La relación masa/agua (RMA) y tiempo de extracción (TIE) son factores significativos ($p \leq 0,05$); confirmando que los coeficientes tendrán una relación directa en la determinación del rendimiento.

En la Figura 1 se observa la interacción entre la relación masa/agua (RMA) y tiempo de extracción (TIE) sobre el rendimiento, comprobando que la variabilidad de los coeficientes tendrá una relación directa en la determinación del rendimiento, notándose que el rendimiento aumentó cuando la relación material vegetal /agua destilada y el tiempo se incrementan.

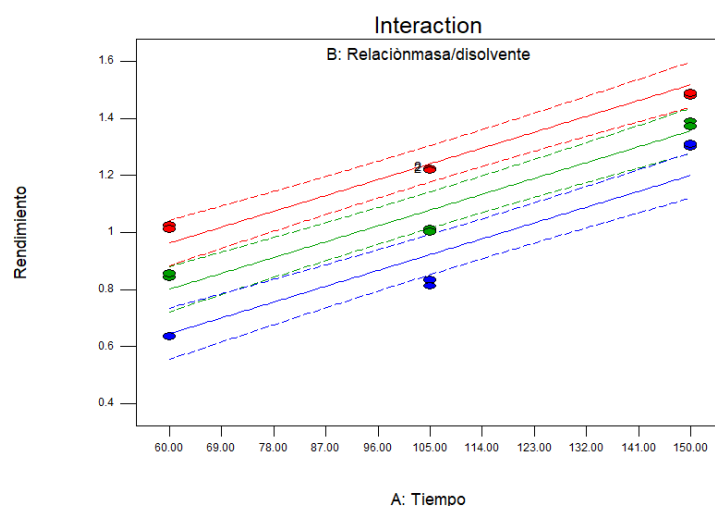


Fig. 1. Interacción entre los factores RMA: relación masa/agua, TIE: tiempo de extracción.

La optimización numérica de la variable rendimiento se ejecutó debido al buen ajuste del modelo matemático. Con un tiempo de extracción de 150 min y una relación masa/agua de 1:5 se obtuvieron las condiciones óptimas previstas, con una función de deseabilidad de uno, que es lo ideal.

Para validar la optimización numérica, se realizó la experimentación a las condiciones óptimas y se comparó con el valor predicho, logrando semejanzas entre el valor predicho y experimental, que se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Valores predichos y experimentales del rendimiento

Valor	Rendimiento (%) (Desviación estándar)
Valor predicho	1,52
Valor experimental	1,51 (0,09)

Caracterización de la composición del aceite esencial

La determinación de los compuestos química del aceite esencial se hizo mediante GC-MS. La tabla 4 muestra los resultados analíticos donde se detectaron 22 compuestos que representan la totalidad de la composición química.

Tabla 4. Composición química (%) del aceite esencial de sunfo

Compuesto	Tiempo de retención (min)	%
α -Pino	13,229	0,28
β -Pino	15,939	0,35
Limoneno	18,590	1,19
<i>p</i> -Cimeno	19,450	3,48
γ -Terpineno	20,458	0,76
Linalol	22,993	3,32
Acetato de 1-octen-3-ilo	23,100	2,27
Mentona	28,487	23,11
<i>trans</i> -Isopulegona	29,425	0,66
<i>cis</i> -Isopulegona	29,447	0,76
Pulegona	33,493	44,31
Timol	34,741	14,39
Acetato de citronelilo	35,962	0,96

Carvacrol	35,966	0,65
1,3,8- <i>p</i> -Mentatrieno	35,970	0,76
Calareno	38,378	0,85
Piperitenona	38,386	0,66
Biclogermacreno	41,924	0,47
δ -Cadineno	41,930	0,58
Espatulanol	41,945	0,05
Mint Furanona 1	41,961	0,05
Isoespatulanol	42,723	0,09

Determinación de la capacidad antioxidante del aceite esencial

Los resultados de capacidad antioxidante del aceite esencial sunfo por las metodologías de FRAP y ABTS son expuestos en la tabla 5.

Tabla 5. Análisis de FRAP y ABTS

Muestra	ABTS	FRAP	
	Cl ₅₀ (mg/mL)	Concentración (mg/mL)	$\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$
Aceite esencial	0,10 (0,03)	4	190,83 (4,33)
		2	98,13 (6,78)
		1	81,23 (5,20)

Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial

La tabla 6 muestra los resultados de la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de sunfo, mediante la metodología de concentración mínima inhibitoria contra las bacterias. La efectividad del aceite esencial se encontró que el rango de 0,5 a 2 %.

Tabla 6. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de sunfo

Microorganismo	CMI (mg/L)
<i>Salmonella enterica</i>	2,0
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	1,0
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	0,5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 39327)	0,5

Discusión

La composición y rendimiento del aceite esencial en la extracción se ven influenciados por factores como el tamaño de partícula del material vegetal,

método de extracción, tiempo de extracción y relación masa disolvente. Por tal razón, se evaluaron los intervalos de tiempo de extracción (60 a 150 min) y relación material vegetal/agua destilada (1:3 a 1:5) mediante un diseño de superficie de respuesta V óptimo; estas referencias fueron seleccionadas de acuerdo a otras investigaciones de extracción de aceites esenciales. ⁽¹¹⁻¹³⁾

Los rendimientos de la extracción del aceite esencial de sunfo variaron entre 0,63 y 1,49 %, lo que es similar a la investigación realizada con la misma planta donde se alcanzó un rendimiento de 1,56 % ⁽²⁰⁾ y diferente al ejecutado con la especie *Clinopodium tomentosum* donde se obtuvo 2,8 % de rendimiento. ⁽²¹⁾

La Figura 1 muestra un modelo lineal simple en el que la interacción de los factores cuantitativos evaluados (X_{RMA} y X_{TIE}) es positiva, donde se observa un aumento significativo del rendimiento al incrementar la relación material vegetal/disolvente y tiempo. Esto permite tomar acciones y decisiones para mejorar el desempeño de los procesos.

Una alta cantidad de disolvente permite alcanzar una mayor superficie en el material vegetal, esto lleva a un alto rendimiento en la extracción del aceite esencial. El material vegetal de algunas plantas contiene aceite esencial en las glándulas odoríferas de las células vegetales, estas en contacto con la fase vapor de agua se hinchan y generan el paso de los aceites esenciales al exterior por osmosis. ⁽²²⁾ Los mejores rendimientos del aceite esencial se dan en las primeras horas de extracción debido a la difusión de los componentes de una fase a otra, generando una transferencia de masa de los componentes activos con tendencia al equilibrio. ⁽²²⁾

El rendimiento del aceite esencial de plantas puede variar debido a la especie vegetal, lugar de recolección, edad, factores abióticos (luminosidad, temperatura, etc.), tiempo de recolección y condiciones climáticas a las que está expuesta la planta. ^(23,24)

Composición del aceite esencial de sunfo

El cromatograma obtenido por GC-MS destaca la presencia mayoritaria de la pulegona, mentona y timol.

La pulegona es un compuesto monoterpénico oxigenado alicíclico orgánico transparente e incoloro con un olor agradable; tiene mayor valor sintético o

comercial que permite utilizar el aceite esencial en la industria alimentaria como agente antimicrobiano. ⁽²⁵⁻²⁶⁾ Su toxicidad se conoce desde la antigüedad, lo que sugiere sus propiedades insecticidas y repelentes. Además, su posible efecto sobre los partos prematuros y los abortos es bien conocido en la medicina popular local. ^(24, 26)

La mentona es un compuesto monoterpeno de aroma peculiar, que se encuentra de manera natural junto con el mentol en muchos aceites esenciales. Esta cetona posee propiedades antioxidantes y antimicrobianas. ^(25- 26)

El timol es un fenol de estructura cristalina incolora con un olor característico que está presente en la naturaleza en los aceites esenciales. Este compuesto posee un gran potencial desinfectante, antioxidante y antimicrobiano. ^(24, 27)

Los componentes citados son considerados aditivos aromatizantes, saborizantes naturales, es decir, mezclas de sustancias naturales con propiedades odoríferas y sápidas, capaces de conferir o intensificar el aroma y el sabor de los alimentos. ^(25- 26)

En el aceite esencial de sunfo se encontraron 22 compuestos químicos, siendo la pulegona (44,31 %), mentona (22,05 %) y timol (14,39 %) los compuestos mayoritarios, lo que coincide con la investigación realizada con aceite esencial de la misma planta donde se identificó como compuestos principales a la pulegona (37,11 %) y mentona (11,57%). ⁽²⁸⁾ Otros trabajos con el mismo aceite de la planta difieren con los resultados obtenidos, donde se encontró la presencia de cinco compuestos mayoritarios como el acetato de carvacrilo (38,1 %), carvacrol (29,0 %), *p*-cimeno (6,6 %), timol (3,1 %) y eugenol (1,1 %). ⁽²⁹⁾ En otra investigación se encontraron cuatro compuestos mayoritarios donde se destaca el acetato de carvacrol (42,1 %), carvacrol (20,6 %), pulegona (6,3 %) y timol (5,5 %) ⁽¹⁾ y en otro trabajo se detectaron cuatro compuestos mayoritarios donde se destacan el acetato de carvacrol (42,17 %), carvacrol (20,66 %), pulegona (6,30 %) timol (5,54 %) y *p*-cimeno (5,20 %). ⁽³⁰⁾

La composición de los aceites esenciales de varias especies del género *Clinopodium* revela una gran diversidad de compuestos químicos, donde se destaca la presencia de carvacrol y timol como compuestos principales, aunque en varias investigaciones se reporta a la pulegona, mentona, germacreno, linalol y

p-cimeno como componentes mayoritarios de los aceites. ⁽²⁸⁻³⁰⁾ Puede haber alguna variación en la composición química de los aceites esenciales, posiblemente debido a la variación genética de la planta y varios factores ambientales como el tiempo de cosecha, clima y ubicación geográfica. ⁽³¹⁾

Capacidad antioxidante del aceite esencial de sunfo mediante el procedimiento de FRAP y ABTS

La Tabla 5 muestra los resultados de capacidad antioxidante obtenidos del aceite esencial de sunfo por las metodologías de FRAP 190,83 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ y ABTS 0,10 mg/mL expresado como Cl_{50} , lo que es superior a la investigación realizada con el aceite esencial de la misma planta donde se obtuvo una Cl_{50} de 0,3 mg/mL. ⁽¹⁾ Otro trabajo con el aceite de la especie *Clinopodium brownei* (Sw.) reportan valores inferiores donde se obtuvo Cl_{50} de 0,06 mg/mL. ⁽³²⁾

En la Tabla 4 se observa como compuestos principales del aceite a la pulegona, mentona y timol, los posibles agentes antioxidantes sobre los que existe referencia de su actividad. ⁽²⁵⁻²⁷⁾ Los compuestos pueden actuar sinérgicamente, ya que desde un punto de vista químico los aceites esenciales son matrices muy complejas y es difícil atribuir su actividad antioxidante a uno o unos pocos compuestos, aunque generalmente la mayoría de ellos los responsables de los efectos biológicos. ⁽¹⁾

Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial

El aceite esencial de sunfo presentó una alta efectividad frente a las cepas bacterianas, según los exámenes se puede detallar el siguiente orden de efectividad en la CMI: *Escherichia coli* (ATTC25922) > *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 39327) > *Staphylococcus aureus* (ATTC25923) > *Salmonella entérica*. La bacteria *Salmonella entérica* mostró mayor resistencia con una CMI de 2,0 mg/L. En otra investigación donde se evalúa la actividad antimicrobiana del aceite esencial de la especie *Clinopodium brownei* (Sw.) se reportaron valores superiores de CMI donde se obtuvo para la *Escherichia coli* (6,22), *Pseudomonas aeruginosa* (8,38) y *Staphylococcus aureus* (7,92). ⁽³²⁾

Los compuestos mayoritarios del aceite esencial, como la pulegona, mentona y timol, presentan actividad antimicrobiana que fue reportada en referencias científicas. ^(24, 25, 26, 27)

Referencias bibliográficas

1. Paco FN, Tatiana de LÁM, Edison AO, Pablo G, Andrea F. *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze essential oil: Chemical composition, antioxidant activity, and antimicrobial test against respiratory pathogens. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy [Internet]. 2018 Sep 30;10(9):149–57. Available from: <https://academicjournals.org/journal/JPP/article-full-text-pdf/E47C39858124>
2. Estrella J. Biodiversidad y recursos genéticos: una guía para su uso y acceso en el Ecuador. Editorial Abya Yala; Available from: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=5wqYLRGlohMC&oi=fnd&pg=PA20&dq=2.%09Estrella>
3. Carmen Adela CA. Aprovechamiento agroindustrial de la planta de sunfo (*Clinopodium nubigenum* kunth-kuntze), para la elaboración de una tisana aromática. Dspaceunacheduec [Internet]. 2019 Oct 1; Available from: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/6152>
4. Castillo García DJ. Caracterización de los compuestos bioactivos del sunfo (*Clinopodium nubigenum*), con propósitos agroindustriales. dspaceudlaeduc [Internet]. 2020 [cited 2023 Apr 26]; Available from: <https://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/12187>
5. Moncayo Miño AE. Caracterización de metabolitos secundarios de naturaleza esteroidea presentes en el aceite esencial y extractos etanólico y clorofórmico de la especie *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts (Lamiaceae). dspaceupseduc [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2023 Apr 26]; Available from: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18437>
6. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology. 2008 Feb;46(2):446–75.
7. Verma N, Shukla S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 2015 Dec;2(4):105–13.

8. Rojas-Molina JO, García MA, Pino JA. Aceite esencial de orégano: de la obtención a la encapsulación. Ciencia y Tecnología de los Alimentos [Internet]. 2020 Sep [cited 2023 Apr 26];30(3):65–74. Available from: <https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA660000638&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=08644497&p=IFME&sw=w&userGroupName=anon>
9. Ruiz S, Malagón O, Zaragoza T, Valarezo E. Composition of the Essential Oils of *Artemisia sodiroi* Hieron., *Siparuna eggersii* Hieron., *Tagetes filifolia* Lag. and *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze from Loja Ecuador. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2010 Jan 1;13(6):676–91.
10. Gaibor FM, Daliannis Rodríguez, García MA, Casariego A. Optimización del proceso de extracción hidroalcohólica a partir de pulpa de cerezo negro (*syzygium cumini* L. Skeels. Ciencia y Tecnología de los Alimentos [Internet]. 2017 May [cited 2023 Apr 26];27(2):51–60. Available from: <https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA636403439&sid=googleScholar&v=2.1&it=r&linkaccess=abs&issn=08644497&p=IFME&sw=w&userGroupName=anon>
11. Quezada-Moreno WF, Quezada-Torres WD, Gallardo-Aguilar I, Cevallos-Carvajal E, Arias-Palma G, Trávez-Castellano A, et al. Extraction and chemical characterization of the essential oil of *Tagetes pusilla*, in fresh and stored samples. Afinidad Journal of Chemical Engineering Theoretical and Applied Chemistry [Internet]. 2019 Dec 30 [cited 2023 Apr 26];76(588). Available from: <https://raco.cat/index.php/afinidad/article/view/361885>
12. Soler-Gallardo, Rafael. Extracción asistida por ultrasonidos de compuestos de valor añadido. 2021.
13. Marín, Irina. Actividad antioxidante y antibacteriana de aceites esenciales ecológicos de hinojo, perejil y lavanda. 2015.
14. Nazem V, Sabzalian MR, Saeidi G, Rahimmalek M. Essential oil yield and composition and secondary metabolites in self- and open-pollinated populations of mint (*Mentha* spp.). Industrial Crops and Products. 2019 Apr;130:332–40.

15. Jo YJ, Cho HS, Chun JY. Antioxidant activity of β -cyclodextrin inclusion complexes containing trans-cinnamaldehyde by DPPH, ABTS and FRAP. Food Science and Biotechnology. 2021 Jun;30(6):807–14.
16. Najibullah SNM, Ahamad J, Aldahish AA, Sultana S, Sultana S. Chemical Characterization and α -Glucosidase Inhibitory Activity of Essential Oil of *Lavandula angustifolia* Flowers. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2021 May 4;24(3):431–8.
17. Palacios-Colón, Laura. Determinación de la capacidad antioxidante de bayas y frutos del bosque. 2018.
18. Rioja Antezana AP, Vizaluque BE, Aliaga-Rossel E, Tejeda L, Book O, Mollinedo P, et al. Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de *Chenopodium quinoa*. Revista Boliviana de Química [Internet]. 2018 [cited 2023 Apr 26];35(5):168–76. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S0250-54602018000500006&script=sci_arttext
19. Merghni Abderrahmen. Evaluación de las actividades de detección de antibiofilm y antiquorum del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y su componente principal 1,8-cineol contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina. Patogenia microbiana. 2018; 118: 74-80.
20. Gómez Benalcazar EV. Sensibilidad microbiana y poder insecticida de los aceites esenciales de *Clinopodium nubigenum* y *Ambrosia arborescens*. repositorioutneduec [Internet]. 2018 [cited 2023 Apr 26]; Available from: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/8457>
21. Moncayo Miño AE. Caracterización de metabolitos secundarios de naturaleza esteroidea presentes en el aceite esencial y extractos etanólico y clorofórmico de la especie *Clinopodium tomentosum* (Kunth) Govaerts (Lamiaceae). dspaceupseduc [Internet]. 2020 Feb 1; Available from: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/18437>
22. Harborne, J. B. Phytochemical methods 3rd edition. Chapman and Hall. 1998: 84-131.

23. Meyer Torres G, Sarmiento Ol, Ramírez RI, Guevara O. Evaluación del rendimiento del aceite esencial de caléndula (*Calendula officinalis* L) obtenido por OAH. Revista ION. 2018 Oct 8;31(1):13–9.
24. Mena Ayala GK, Salas Vásconez EM. Extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica. repositorioutceduec [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2023 Apr 26]; Available from: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/9427>
25. Torossi Baudino, Favio Daniel. Reacciones destinadas a disminuir el contenido de (R)-(+)-Pulegona en aceites esenciales de menta de uso alimenticio. 2021.
26. Abalco Abalco TC. Caracterización fitoquímica del aceite esencial de orégano (*O. vulgare* L.) por cromatografía de gases procedente de dos provincias del Ecuador. 2020 [cited 2023 Apr 26]; Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/20545>
27. Erazo Guijarro MJ. Efecto antimicrobiano del timol sobre cepas de estreptococos mutans: estudio in vitro. 2017 [cited 2023 Apr 26]; Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/8270>
28. Gilardoni G, Malagon O, Morocho V, Negri R, Tosi S, Guglielminetti M, et al. Phytochemical researches and antimicrobial activity of *Clinopodium nubigenum* Kunth (Kuntze) raw extracts. Revista Brasileira de Farmacognosia [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2023 Apr 26];21:850–5. Available from: <https://www.scielo.br/j/rbfar/a/Md4Gvdyh7nfqDNdXZtHgMMg/abstract/?lang=en>
29. Ruiz S, Malagón O, Zaragoza T, Valarezo E. Composition of the Essential Oils of *Artemisia sodiroi* Hieron., *Siparuna eggersii* Hieron., *Tagetes filifolia* Lag. And *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze from Loja Ecuador. Journal of Essential Oil Bearing Plants. 2010 Jan 1;13(6):676–91.
30. Guerra Cajas PA. Evaluación de la actividad antioxidante Bioautográfica de dos variedades de aceites esenciales andinos *Clinopodium nubigenum*

(Kunt) Kuntze y *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. dspaceupseduc [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2023 Apr 26]; Available from: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/12183>

31. Verma N, Shukla S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants. 2015 Dec;2(4):105–13.
32. Noriega P, Calderón L, Ojeda A, Paredes E. Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Bioautography Activity of Essential Oil from Leaves of Amazon Plant *Clinopodium brownei* (Sw.). Molecules. 2023 Feb 11;28(4):1741.

Conflicto de intereses

Los autores declaramos que no existen conflictos de intereses.

Contribución de los autores

Conceptualización: Jaime Orlando Rojas Molina

Curación de datos: Jorge Antonio Pino Olea, Jaime Orlando Rojas Molina

Análisis formal: Jaime Orlando Rojas Molina, Ramiro Cevallos Carvajal, Franklin Antonio Molina Borja, Gabriela Katherine Mena Ayala, Elsa Jackeline Quilumbaquin Toaquiza

Adquisición de fondos:

Investigación: Jaime Orlando Rojas Molina, Jorge Antonio Pino Olea, Ramiro Cevallos Carvajal, Franklin Antonio Molina Borja, Gabriela Katherine Mena Ayala, Elsa Jackeline Quilumbaquin Toaquiza

Metodología: Jaime Orlando Rojas Molina, Jorge Antonio Pino Olea

Administración del proyecto:

Recursos:

Software:

Supervisión:

Validación:

Visualización: *Jaime Orlando Rojas Molina, Jorge Antonio Pino Olea*

Redacción, revisión y edición: *Jaime Orlando Rojas Molina, Jorge Antonio Pino Olea*