

Actividad antibacteriana de los aceites obtenidos de *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom*, *O. album*, *O. thyrsoiflorum*, para uso potencial en fitocosmética

Martha Cecilia Beltrán Cifuentes*, María Pía Cantillo Maldonado*,
Andrea Maritza Vivas Castaño*

Resumen

Introducción: de la especie *Ocimum basilicum* L., en las variedades *cinammom*, *album*, *thyrsoiflorum*, se han reportado por GC-MS altos contenidos de fenilpropanos y monoterpenos oxigenados, como: p-eugenol, E- Z cinamato de metilo, eucaliptol y linalool. Estudios farmacognósticos indican que estos compuestos se caracterizan por presentar actividades antimicrobianas.

Métodos: los AEs (Aceites Esenciales) se obtuvieron por destilación de arrastre de vapor tipo Clevenger, secados con sulfato de sodio anhidro, y conservados herméticamente bajo refrigeración. La actividad antimicrobiana de los AEs se realizó por el método de dilución en caldo, para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) y la Concentración Mínima Bactericida (MBC) a partir de diluciones dobles seriadas en un rango de concentración entre 3,12 a 0,1%; dichas concentraciones fueron enfrentadas a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* y *Salmonella typhimurium*.

Resultados: el aceite esencial (AE) de la especie *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom* presentó actividad inhibitoria frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*, pero no frente a *Pseudomona aeruginosa*; los resultados mostraron el mismo porcentaje de concentración de AE para la MIC que para la MBC.

Los AEs de la especie *Ocimum basilicum* L. var. *album* y *Ocimum basilicum* L. var. *thyrsoiflorum*, mostraron actividad inhibitorias a las mismas concentraciones de AEs contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, ambas variedades enseñaron la misma MIC y MBC frente *E. coli*.

Conclusión: los resultados obtenidos demuestran la capacidad que tienen los AEs para inhibir el crecimiento de algunos microorganismos patógenos, lo que permite considerarlo como fuente potencial en el campo de la fitocosmética, donde se ha reportado su uso en la elaboración de productos para el tratamiento del acné, champú, tónicos y mascarillas.

Palabras clave

Ocimum basilicum; Aceites Volátiles; Agentes Antibacterianos.

* Grupo de Investigación en Biotecnología y Biodiversidad GIBIBIO. Laboratorio COBILAN
Fundación Universitaria del Área Andina Seccional Pereira. biotecnología@funandi.edu.co

Antibacterial activity of oils from *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom*, *O. album* *O. thyrsoiflorum*, for potential use in phytocosmetics

Abstract

Introduction: the species *Ocimum basilicum* L., in the varieties: *cinammom*, *album*, *thyrsoiflorum* have been reported by GC-MS by their high content of oxygenated monoterpenes and phenylpropanes as: p-eugenol, E-Z methyl cinnamate, eucalyptol and linalool. Pharmacognosis studies indicate that these compounds are characterized by antimicrobial activities.

Methods: essential oils (EOs) were obtained by distillation Clevenger-type steam stripping, dried with sodium sulfate anhydrous, and hermetically preserved under refrigeration. The antimicrobial activity of the EO was performed by the broth dilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) from fold serial dilutions in a concentration range from 3,12 to 0,1%, and these concentrations were faced with *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhimurium*.

Results: essential oils (EOs) of the species *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom* showed inhibitory activity against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*, but not against *Pseudomonas aeruginosa*, the results showed the same percentage for the concentration of EO as a MBC and MIC.

The EOs of the species *Ocimum basilicum* L. var. *album* and *Ocimum basilicum* L. var. *thyrsoiflorum* showed inhibitory activity at the same concentrations of OEs against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, both varieties showed the same MIC and MBC against *E. coli*.

Conclusion: these results obtained demonstrate the ability of OEs to inhibit the growth of certain pathogen microorganisms, which allows considering it as a potential source of phytocosmetics field, which has been reported for use in the manufacture of products for the treatment of acne, manufacture of shampoo, toners and masks.

Key words

Ocimum basilicum; Volatile Oils; Antibacterial Agents.

Atividade antibacteriana dos azeites obtidos de *Ocimum basilicum* L. var. cinammom, *O. album*, *O. thyrsoflorum*, para uso potencial em fito cosmética

Resumo

Introdução: da espécie *Ocimum basilicum* L., nas variedades cinammom, album, thyrsoflorum, tem-se reportado por GC-MS altos conteúdos de fenilpropanos e monoterpenos oxigenados, como p-eugenol, E- Z cinamato de metilo, eucaliptol e linalool. Estudos farmacognósticos indicam que estes compostos se caracterizam por apresentar atividades antimicrobianas'

Métodos: os AEs (Azeites Essenciais) foram obtidos por destilação de arrastre de vapor tipo Clevenger, secados com sulfato de sódio anidro, e conservados hermeticamente sob refrigeração. A atividade antimicrobiana dos AEs se realizou pelo método de diluição em caldo, para determinar a Concentração Mínima Inibitória (MIC) e a Concentração Mínima Bactericida (MBC), a partir de duplas diluições seriadas numa faixa de concentração entre 3,12 a 0,1%; ditas concentrações foram enfrentadas a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa* e *Salmonella typhimurium*.

Resultados: o azeite essencial (AE) da espécie *Ocimum basilicum* L. var. cinammom apresentou atividade inibitória frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium*, mas não frente a *Pseudomona aeruginosa*; os resultados mostraram a mesma porcentagem de concentração de AE para a MIC como para a MBC.

Os AEs da espécie *Ocimum basilicum* L. var. album e *Ocimum basilicum* L. var. thyrsoflorum, mostraram atividades inibitórias às mesmas concentrações de AEs contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, ambas variedades indicaram mesma MIC e MBC frente ao *E. coli*

Conclusão: os resultados obtidos demonstram a capacidade que tem os AEs para inibir o crescimento de alguns microrganismos patogênicos, o que permite considerá-los como fonte potencial no campo da fito cosmética, onde se tem reportado seu uso em elaboração de produtos para o tratamento do acne, shampú, tônicos e máscaras.

Palavras Chave

Ocimum basilicum; Azeites Voláteis; Agentes Antibacterianos.

Fecha de recibo: Octubre/2012

Fecha aprobación: Abril/2013

Introducción

Colombia es considerado el segundo país del mundo en diversidad biológica, donde las plantas medicinales ocupan el lugar más importante (1, 2), lo cual hace que tenga alto potencial como fuente de principios activos que pueden ser utilizados como alternativa terapéutica, empleadas en el tratamiento de diversas enfermedades (3).

La OMS y la ONU estiman que el 80% de los habitantes de la tierra dependen de las plantas medicinales para satisfacer sus necesidades de atención primaria en salud (4, 5). La actividad antimicrobiana de los extractos vegetales y productos naturales, revela su potencial como una fuente de agentes anti-infectivos, permitiendo de esta manera avance en el uso empírico de las especies vegetales con una base científica (6, 7).

Numerosas plantas poseen características medicinales debido a principios activos referidos a las propiedades químicas que se encuentran en ellas; principios que se localizan en las diferentes partes de la planta como hojas, flores, tallos, semillas o raíces (8, 9).

A las plantas también se les atribuyen beneficios dentro de la cosmética natural, ofreciendo ventajas para la salud de la piel, ya que al no ser agresivas fortalecen y mejoran las funciones dérmicas, gracias a sus componentes químicos naturales (10).

Ante los cambios culturales, económicos y las perspectivas sobre los productos cosméticos, se proyectan investigaciones relacionadas con el empleo de sustancias naturales como los aceites esenciales (AEs), que han demostrado propiedades

antimicrobianas, las cuales utilizadas en productos cosméticos disminuyen el uso exclusivo de productos químicos sintéticos, que pueden ser perjudiciales para la salud (11, 12).

La especie vegetal en estudio, perteneciente al género *Ocimum*, comprende más de 50 especies (8-9) que se han caracterizado por contener AEs (13, 14) biológicamente activos, que han presentado propiedades alelopáticas, antibacteriales, antioxidantes, nematocidas, antistáticas, antifúngicas entre otras (15-17).

Trabajos realizados en algunas especies de *Ocimum basilicum* L., entre ellas, *O. basilicum* L. var. *cinammom*, *O. anisatum*, *O. purpurescens*, *O. album*, *O. thyrsoiflorum* y *O. cf. Gratissimum*, en el Laboratorio de Control de Calidad y Biotecnología COBILÁN de la Fundación Universitaria del Área Andina – Pereira (Colombia), han demostrado que estas especies presentan compuestos químicos como monoterpenos oxigenados y fenilpropanoides (18), que según estudios presentan actividad biológica antibacteriana y antimicótica, lo cual hace a estas plantas buenas candidatas para la búsqueda de metabolitos, que podrían ser desarrollados como una alternativa económica y ambientalmente viable para uso medicinal y fitocosmético (14, 19, 20).

La búsqueda de sustancias con actividad antibacteriana en fuentes no tradicionales como plantas superiores (con raíces, tallos y hojas), posibilitan el encuentro de metabolitos con buena actividad antimicrobiana frente a bacterias resistentes a antibióticos y con otras propiedades, que permitan su utilización como agentes quimioterapéuticos,

desinfectantes o como conservantes antimicrobianos en productos farmacéuticos, cosméticos o en alimentos (21).

Los AEs podrían ser utilizados como conservantes que eviten la contaminación en los productos cosméticos, previniendo cambios no deseados con relación al olor del producto, el color, la viscosidad y el rendimiento, que en una piel lastimada puede ocasionar infecciones, abrasión, irritación y alergias (22).

Para asegurar la calidad de un cosmético se debe evaluar la efectividad antimicrobiana de los conservantes, de manera que este evite el crecimiento de microorganismos. El límite superior aceptado de microorganismos no patógenos en los productos cosméticos de uso general es de 10^3 UFC/ml, y no deben contener microorganismos patógenos como *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* sp. y *Candida albicans*, que son una amenaza para la vida humana (23).

Diferentes métodos de laboratorio pueden ser usados para determinar *in vitro* la susceptibilidad de las bacterias ante agentes microbianos. En general se utilizan los métodos de difusión (en papel o en pozo) para estudiar compuestos polares y los métodos de dilución para sustancias polares y no polares (20); en este último se utilizan técnicas de microdilución y macrodilución en caldo, que son utilizados para determinar la concentración mínima bactericida (MBC) y la concentración mínima inhibitoria (MIC), definida como la menor concentración de sustancia que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo, y la MBC como la mínima concentración de sustancia que destruye el 99,9% del inóculo. A través de estas metodologías se puede evaluar

el potencial de nuevos antimicrobianos (24).

En el presente estudio se determinó actividad inhibitoria *in vitro* por la técnica de macrodilución en caldo (24) de AEs provenientes de tres especies del género *Ocimum*, variedades *cinammom*, *album*, *thyriflorum*, frente al crecimiento de diferentes microorganismos patógenos: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhimunium*.

Materiales y métodos

Material vegetal

Se trabajó con 3 variedades de la especie *O. basilicum* del género *Ocimum*, perteneciente a la familia Lamiaceae, específicamente las variedades: *O. cinammom*, *O. álbum* y *O. thyriflorum*, conocidas comúnmente como: Albahaca Canela, Albahaca Blanca y Albahaca Virgen, respectivamente (18).

Fueron colectadas en el corregimiento La Florida, municipio de Pereira, departamento Risaralda (Colombia), a 1440 msnm; 76% de humedad relativa y temperatura promedio de 27°C.

El material vegetal fue previamente lavado y secado a temperatura ambiente (23-24°C) en las instalaciones de la Fundación Universitaria del Área Andina (18).

El contenido de humedad del material vegetal seco se determinó por el método AOAC 934.91 (Association of Analytical Communities), procedimiento gravimétrico oficial que consiste en la pérdida de masa de las muestras desecadas a 105°C, hasta masa constante en estufa de aire (25).

Destilación de los AEs

Se escogieron las hojas y flores que se consideraron sanas. Se trituraron para aumentar la superficie de contacto (26); se pesaron 100 g de material vegetal y se sometieron a hidrodestilación con 500 mL agua destilada en un equipo de destilación por arrastre de vapor tipo Clevenger durante 3 horas. Después de obtener los AEs, se secaron con sulfato de sodio anhidro, se almacenaron en recipientes herméticos protegidos de la luz y bajo refrigeración a 4°C hasta su utilización (16, 19, 27-29).

Con la cantidad de AEs obtenidos se calculó el porcentaje de rendimiento de extracción (14).

A los AEs se les determinaron las características sensoriales: aspecto, color y olor, conforme a la NTC 3925, consistente en la evaluación de las muestras por medio de las sensaciones percibidas por los órganos de los sentidos (30).

Preparación del inóculo

Se emplearon microorganismos Gram positivos *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y Gram negativos *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853 y *Salmonella typhimurium* ATCC 14028.

A partir de estos microorganismos se prepararon cultivos de 24 horas de incubación en agar tripticasa de soya (TSA) y se tomaron de cinco a seis colonias de apariencia similar en 5 mL de caldo tripticasa de soya para ajustar la turbidez hasta una equivalente del 0,5 de la escala de McFarland aproximadamente $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. A partir de esta concentración

se realizaron diluciones con base de diez para obtener una concentración final entre 10^5 y 10^6 UFC/mL. A partir de estas concentraciones se realizaron cultivos en TSA para corroborar las unidades formadoras de colonias UFC/mL de inóculo inicial (20, 31).

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria - MIC

Para evaluar la actividad antimicrobiana se empleó el método de macrodilución en caldo.

En tubos con caldo tripticasa de soya se realizaron diluciones dobles seriadas del AE de albahaca en un rango de concentraciones entre 3,125 a 0,1%; dichas diluciones fueron enfrentadas a inóculos de microorganismos ajustados entre 10^5 y 10^6 UFC/mL. Se empleó Dimetilsulfoxido (DMSO) como solvente para los aceites y se realizó una serie de blancos para corroborar que el solvente no interfería en el crecimiento microbiano (20, 31).

Los tubos inoculados se incubaron a 35°C por 24 horas; pasado este tiempo se escogió la mayor dilución del AE que no presentó turbidez visible como la MIC.

Determinación de la Concentración Mínima Bactericida - MBC

A partir de las tres últimas diluciones que no presentaron turbidez en la MIC, se realizaron subcultivos en TSA y se incubaron a 35 °C por 24 horas, tiempo después se contaron las colonias bacterianas de cada placa de subcultivo.

La MBC se reportó como la mayor dilución de AE, la cual al subcultivarse redujo el crecimiento el inóculo inicial en un 99,9% (20, 31).

Cuadro 1. Humedad y rendimiento de extracción del material vegetal

| Variedad <i>Ocimum basilicum</i> L. | %Humedad | %Rendimiento |
|-------------------------------------|----------|--------------|
| var. cinammom (A. Canela) | 12,63 | 0,324 |
| var. thyrsoiflorum (A. Virgen) | 12,63 | 0,145 |
| var. album (A. Blanca) | 13,31 | 0,158 |

Análisis estadístico

La humedad y el rendimiento de los AEs se determinaron por triplicado; los resultados se expresaron como valores medios y se realizó un análisis de varianza. El análisis estadístico se realizó con el programa STATA 10 (32).

Resultados

El porcentaje de humedad del material vegetal se realizó por triplicado; no hubo diferencias significativas ($P > 0,05$) entre las medias de las 3 variedades de *Ocimum basilicum* L. El rendimiento de

extracción por destilación de arrastre de vapor tipo Clevenger de las 3 variedades se realizó por triplicado y hubo diferencias significativas entre las 3 variedades ($P < 0,0001$), debido a que el rendimiento de la variedad *cinammom* fue superior con relación a las variedades *thyrsoiflorum* y *album*. Los resultados promedios se indican en el cuadro 1.

Las características organolépticas de los AEs extraídos de las variedades *cinammom*, *thyrsoiflorum* y *album* fueron de aspecto líquido aceitoso brillante, color amarillo claro y de olor característico a la materia prima.

Cuadro 2. Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) y Concentración Mínima Bactericida (MBC) de los AEs de las especies *Ocimum basilicum*

| Especie <i>Ocimum basilicum</i> | Cepa | Inóculo inicial UFC/ml | MIC (% AE) | | | | | | MBC (% AE) | |
|------------------------------------|----------------|---------------------------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|------------|----------------------|
| | | | 3,12 | 1,6 | 0,8 | 0,4 | 0,2 | 0,1 | % AE | UFC/ml Final |
| var. cinammom | S. aureus | 1,2x10 ⁶ | - | - | + | + | + | + | 1,6 | 650 |
| | E. coli | 2,9 x10 ⁶ | - | - | - | + | + | + | 0,8 | <10 |
| | S. typhimurium | 1,6 x10 ⁶ | - | - | + | + | + | + | 1,6 | <10 |
| | P. aeruginosa | 2,0x10 ⁶ | + | + | + | + | + | + | | >2,0x10 ⁶ |
| var. thyrsoiflorum | S. aureus | 9,5 x10 ⁵ | - | - | - | - | - | + | 0,8 | 580 |
| | E. coli | 1,3x10 ⁶ | - | - | - | - | - | + | 0,2 | <10 |
| var. album | S. aureus | 9,5 x10 ⁵ | - | - | - | - | - | + | 0,8 | 430 |
| | E. coli | 1,3x10 ⁶ | - | - | - | - | - | + | 0,2 | <10 |

(-) Ausencia turbidez; (+) Presencia turbidez.

La MIC muestra la mayor dilución del AE que no presentó turbidez visible en el medio de cultivo y la MBC muestra la mayor dilución de AE que redujo el crecimiento del inóculo inicial en un 99,9% (1a UFC/ml final muestra la reducción promedio del inóculo inicial). P. aeruginosa no presentó inhibición en las concentraciones evaluadas.

Cuadro 3. Cuadro 3. MIC y MBC de los AEs de la especie *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom*

| Microorganismo | var. <i>cinammom</i> Albahaca Canela) | |
|--|--|---------|
| | MIC (%) | MBC (%) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 1,6 | 1,6 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 0,8 | 0,8 |
| <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 | 1,6 | 1,6 |
| <i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 | ND | ND |

ND: no detectable en las concentraciones evaluadas

Cuadro 4. MIC y MBC de los AEs de la especie *Ocimum basilicum* L. var. *thyriflorum* y *Ocimum basilicum* L. var. *album*

| Microorganismo | var. <i>thyriflorum</i> (Albahaca Virgen) | | var. <i>album</i> (Albahaca Blanca) | |
|---|--|---------|--|---------|
| | MIC (%) | MBC (%) | MIC (%) | MBC (%) |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | 0,2 | 0,8 | 0,2 | 0,8 |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 0,2 | 0,2 | 0,2 | 0,2 |

El AE de la especie *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom* presentó actividad inhibitoria frente *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*; sin embargo, no presentó actividad inhibitoria contra *Pseudomona aeruginosa* en las concentraciones evaluadas.

Los AEs de las especies de *Ocimum basilicum* L. var. *album* y *Ocimum basilicum* L. var. *Thyriflorum*, mostraron actividad inhibitoria a las mismas concentraciones de aceites contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. (Cuadro 2)

En el cuadro 2 y 3 se muestra que el AE de la especie *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom* para todos los microorganismos evaluados con excepción de la *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853, presentaron el mismo porcentaje de concentración de AE para la MIC que

para la MBC. Igualmente se observa que el AE con una menor concentración de 0,8% logra un efecto bactericida en el crecimiento de *Escherichia coli* ATCC 25922.

A la mismas concentraciones los AEs de la especie de *Ocimum basilicum* L. var. *thyriflorum* y *Ocimum basilicum* L. var. *Album*, lograron inhibir *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 25922; para el caso de *S. aureus* la MBC fue dos diluciones menos de la MIC y los AEs de ambas variedades presentaron la misma MIC y MBC frente *E. Coli*. Ver cuadro 2 y 4.

Discusión

Para mejorar el proceso de extracción de los AEs se debe secar y triturar el material vegetal, determinar y controlar su humedad (26), debido a que altos contenidos de este parámetro pueden afectar negativamente

la extracción o alterar la calidad química del aceite, generando procesos de hidrólisis de glicéridos y el consiguiente incremento de la acidez (33); la acidez es considerada como una medida del grado de descomposición de un aceite y está relacionada con la condición y calidad del mismo; una acidez elevada acorde a la pureza del aceite, significa que ha sufrido alteraciones generando cambios en el aroma y el sabor (34).

El porcentaje de humedad encontrado fue entre 12% y 13% para las 3 variedades de *Ocimum basilicum* L. Estos valores son similares a los encontrados en otros estudios que reportan valores de humedad de 11,33%, 12,37% y 15,33%, para diversas variedades de *Ocimum* (27, 35).

Los porcentajes de rendimiento de extracción de los AEs varían según la planta, y en general son valores bajos. La albahaca contiene AEs entre el 0,04 al 0,7%, y son los responsables de su aroma y sabor (25). De las variedades estudiadas el mayor rendimiento que se encontró fue para la variedad *cinammom* con un 0,324%, seguido por las variedades *album* y *thyrsoiflorum* con valores de 0,158% y 0,145% respectivamente.

Los resultados de este estudio empleando el método de destilación por arrastre de vapor tipo Clevenger, mostraron que el rendimiento de las variedades *album* y *thyrsoiflorum* son considerablemente bajos con relación al rendimiento de extracción de la variedad *cinammom* que se encuentra próximo a los valores reportados por algunos estudios e indican valores de rendimiento del 0,3% para la *Ocimum americanum* L. (14), rendimiento entre 0,4% (36) y 0,64% (19) para la especie *O. gratissimum* L. y 0,26% para la variedad *purpurescens* (19, 28).

La gran mayoría de las esencias vegetales son incoloras, algunas presentan coloraciones modificables por el oxígeno del aire. Los resultados de la evaluación sensorial de los AEs obtenidos para las variedades de *Ocimum basilicum* L. fueron similares a los reportados por otros estudios que indican que los AEs extraídos (en especial las variedades *basilicum* y *purpurescens*) tienen aspecto transparente, color ligeramente amarillo y olor aromático característico (14, 28). Las modificaciones de color observadas se deben a la acción de la luz, lo que a su vez insinúa la presencia de compuestos alifáticos con pocas insaturaciones o bien aromáticos monoanulares (14).

El AE de *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom* inhibió el crecimiento de tres de los cuatro microorganismos evaluados, notándose de acuerdo al cuadro 3 que la concentración más efectiva fue 1,6%, ya que a esta concentración no crecieron los microorganismos a excepción de *Pseudomonas aeruginosa*.

Los AEs de las especies de *Ocimum basilicum* L. var. *album* y *Ocimum basilicum* L. var. *thyrsoiflorum*, lograron inhibir los dos microorganismos a los que fueron enfrentados, siendo la concentración de 0,2% la que impide el crecimiento *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Este comportamiento pudo deberse a las propiedades antimicrobianas atribuidas a los compuestos de los AEs del género *Ocimum* (18).

Los resultados se relacionan con estudios previos realizados por los autores sobre la composición de los AEs, en donde se encontró un contenido de eucaliptol (24,06%) en la variedad *O. cinammom*, y un contenido de E-cinamato de metilo y linalool en *O. basilicum* L. var. *album*

(E-cinamato de metilo 28,20%, linalool 18,17%) y *O. thyrsoiflorum* (E-cinamato de metilo 24,32%, linalool 31,75%) (18). La alta concentración de compuestos de las últimas dos variedades le podrían conferir un mayor potencial a los AEs para inhibir a una menor concentración el crecimiento de patógenos.

La información anterior se corrobora con estudios farmacognósticos que reportan que el (E)-cinamato de metilo, el linalool y el eucaliptol se caracterizan por presentar actividad antimicrobiana, antimicótica y antiséptica. En los resultados observados en cuadro 3, *O. basilicum* L. var. *Cinammom*, presenta inhibición a concentraciones más altas del AE (0,8 -1,6%) en comparación a *O. basilicum* L. var. *álbum* y *O. thyrsoiflorum* (0,2 -0,8%) (18).

Las diferentes metodologías existentes para determinar la actividad antibacteriana, la composición y concentraciones variables de los AEs, las condiciones climáticas, la ubicación geográfica, la estación en el momento de la recolección, la etapa de desarrollo y el procesamiento de materiales de plantas antes de la extracción de los AEs, hacen más compleja una comparación directa entre estudios (37).

Los resultados de la presente investigación se corroboran con los obtenidos por diferentes autores, quienes reportan que *Ocimum basilicum* L. presenta inhibición en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (11, 12, 19, 20).

Los ensayos antibacterianos realizados por Bishnu *et al.* (38), reportan susceptibilidad a los AEs de *Ocimum* frente a *Staphylococcus aureus*, y en

comparación con los resultados de este estudio, *Pseudomonas aeruginosa* también presentó resistencia a los efectos antibacterianos de los AEs. En estudios realizados por Murillo *et al.* (14), los AEs de albahaca (12-100%) se sometieron a la acción de las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, y en ninguno de los casos los AEs ejercieron actividad antibacteriana.

Los resultados de este estudio corroboran los datos obtenidos por los autores citados con relación a la inhibición de algunos microorganismos patógenos; sin embargo se encuentra información variada con relación a las concentraciones utilizadas de los AEs a niveles *in vitro* y con fines industriales.

En Colombia no hay una farmacopea nacional, por lo tanto se recurre a las farmacopeas oficialmente aceptadas en otros países. Las normas de calidad y concentración de los AEs varían según la normatividad utilizada por cada empresa y del uso final para producto cosmético (3).

Según la base de datos de la Comisión Europea sobre información de las sustancias e ingredientes contenidos en los cosméticos, el AE de *Ocimum basilicum* se reporta en la elaboración de mascarillas y tónicos, y no se especifica la concentración de uso; sin embargo algunos de los componentes que contiene este aceite como el eugenol y el linalol, se encuentra como causantes de sensibilidad, por lo cual es necesario hacer pruebas de laboratorio donde se evalúen los niveles máximos de uso para productos en el cuidado de piel (22, 39).

Por lo general el deterioro de los cosméticos es el resultado de numerosas interacciones

microbianas; se hace entonces necesario tener un amplio espectro antimicrobiano para la conservación de estos productos. La inhibición de los AEs de *Ocimum basilicum* proporcionaría la protección de los productos cosméticos y por lo tanto su recomendación como un conservante antimicrobiano.

Los resultados de la presente investigación permiten concluir que los AEs de las diferentes variedades *O. cinammom*, *O. álbum* y *O. thyrsoiflorum* inhiben el crecimiento de algunos patógenos, por lo que podrían ser utilizados como agentes antimicrobianos potenciales para la elaboración de productos fitocosméticos que exhiban estas características y como conservantes de alimentos contra los microorganismos que los estropean.

Este estudio contribuye al conocimiento primario de variedades de *Ocimum basilicum* L. en Pereira – (Colombia). Los recursos genéticos del género *Ocimum basilicum* L. tienen el potencial de un cultivo a gran escala y pueden ser utilizados en proyectos productivos para la generación de oportunidades para mujeres cabeza de hogar para fortalecer cadenas productivas en cadenas aromáticas.

Para tener más información sobre el comportamiento antimicrobiano de los AEs de *Ocimum basilicum* L., sería

necesario evaluar concentraciones de los AEs diferentes a las ensayadas para determinar la inhibición de *Pseudomonas aeruginosa* y otros patógenos de importancia clínica que no se evaluaron en este estudio.

Se hace necesario ampliar la investigación según los propósitos a los que serán utilizados los AEs. En donde se podría evaluar la efectividad de los AEs de *Ocimum basilicum* L. en combinación con otros compuestos, ya sea en productos cosméticos y/o medicinales para determinar si tiene el mismo efecto en su estado inicial a cuando es combinado.

El rendimiento de los aceites obtenidos de *Ocimum basilicum* L. var. *thyrsoiflorum* (A. Virgen) y var. *album* (A. Blanca) no fue suficiente para realizar los ensayos de inhibición frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, siendo necesario aumentar la cantidad de materia prima utilizada para su extracción dado el tamaño de la hoja menor frente a la variedad *cinammom* (A. Canela)

Agradecimientos

Centro de Investigaciones y Facultad de Ciencias de la Salud, Fundación Universitaria del Área Andina Seccional Pereira.

Referencias

1. Tobasura I. La Biodiversidad Colombiana. Manizales, Caldas: Universidad de Caldas; 2002.
2. Ocampo R. Situación actual del comercio de plantas medicinales en América Latina. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 2002; 1(4):35-40.
3. Biocomercio-Sostenible. Estudio del mercado colombiano de aceites esenciales. Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos "Alexander von Humboldt"; 2003.
4. Giraldo H. Reconocimiento y clasificación botánica de plantas medicinales y recuperación de saberes campesinos en diez veredas del municipio de Mistrató (Risaralda). Boletín Investigaciones de UNISARC 2003; 1(2):12-26.
5. Mongeli E, Pomilio A. Nuevos medicamentos y etnomedicina del uso popular a la industria. Ciencia Hoy 2012; 12(68):52-66.
6. López R, Alvarez M, López T, J G. Actividad antifúngica in vitro de *Pinus caribaea*. Revista Cubana de Plantas Medicinales 1997; 2:25-9.
7. Martínez J, Molina N, Boucourt E. Evaluación de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava* L. (guayaba). Revista Cubana de Plantas Medicinales 1997 ;2(1):12-4.
8. Vaca J, Villalva G, Cevallos C. Conocimientos, actitudes y prácticas terapéuticas de las plantas medicinales en las familias afro-ecuatorianas de la comunidad de Juncal, Provincia de Imbabura, periodo noviembre 2009 agosto 2010. Ibarra Ecuador: Universidad del Norte; 2011.
9. Soberanis A. Evaluación de propiedades fisicoquímicas de la oleoresina de cardamomo (*Elletteria cardamomum*, L. Matton) obtenida a nivel laboratorio utilizando dos métodos de lixiviación a tres diferentes temperaturas. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2009.
10. Ara A. Las 40 plantas medicinales más populares. Una guía práctica y completa de sus virtudes terapéuticas y recetario. 4 ed. S.A. E, editor. Madrid 2004.
11. Ngassoum M, Essia-Ngang J, Tatsadjieu L, Jirovetz L, Buchbauer G, Adjoudji O. Antimicrobial study of essential oils of *Ocimum gratissimum* leaves and *Zanthoxylum xanthoxyloides* fruits from Cameroon. Fitoterapia 2003;74 (3):284-7.
12. Runyoro D, Ngassapa O, Vagionas K, Aligiannis N, Graikou K, Chinou I. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species growing in Tanzania. Food Chemistry 2010; 119(1):311-6.
13. Reyes J, Patiño JG, Martínez J, Stashenko E. Caracterización de los metabolitos secundarios de dos especies de *Ocimum* (Labiatae), en función del método de extracción. Scientia et Technica Año XIII 2007;1(33):121-3.
14. Murillo E, Fernández K, Sierra D, Viña A. Caracterización fisicoquímica del aceite esencial de albahaca. II. Revista Colombiana de Química 2004; 33(2):139-48.
15. Romero C, Belisario Y, Blasco M. Extracción del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) con CO₂ supercrítico. Ciencia 2004; 12(4):309-14.
16. Viña A, Fernández K, Murillo E, Méndez J. Actividad antioxidante y antimicrobial de los volátiles de cuatro variedades de albahacas cultivadas en el departamento del Tolima. . Scientia et Technica Año XIII 2007; 12(4):401-3.
17. Romero C, Belisario Y, M B. Extracción del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) con CO₂ supercrítico. Ciencia Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences, Universidad del Zulia 2004; 12(4):309 - 14.
18. Beltrán M, Peláez E, Estrada J, Escobar J, Serna L, Rios D. Estudio farmacognóstico para el cuidado de la salud a partir de aceites esenciales obtenidos por destilación de arrastre de vapor. Investigaciones Andina 2010; 20(12):8-18.
19. Acosta M, González M, Araque M, Velazco E, Khouri N, Rojas L, et al. Composición química de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. var *basilicum*, *O. basilicum* L. var *purpurens*, *O. gratissimum* L., y *O. tenuiflorum* L., y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multirresistentes de origen nosocomial. Revista de la Facultad de Farmacia 2003; 45(1):19-24.
20. Muñoz A, Patiño JG, Cárdenas C, Reyes J, Martínez J, Stashenko E. Composición química de extractos obtenidos por destilación-extracción simultánea con solvente de hojas e inflorescencias de nueve especies y/o variedades de albahacas (*Ocimum* spp.). Scientia et Technica Año XIII 2007(33):197-9.

21. Mantilla J, Sanabria A. Actividad antibacteriana de plantas superiores colombianas. Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas 1985;4(2):25-33.
22. Yorgancioglu A, Bayramoglu E. Production of cosmetic purpose collagen containing antimicrobial emulsion with certain essential oils. Industrial Crops and Products 2013; 44:378-82.
23. Resolución 1418 Adiciones a la Resolución 797 - Límites de contenido microbiológico de productos cosméticos, (2011).
24. Koneman E, Winn W, Allen S. Koneman Diagnostico microbiológico texto y atlas a color. In: Medica-Panamericana, editor. 6 ed. Buenos Aires 2006. p. 1421-2.
25. Díaz P. Efecto del tiempo de secado y de la variedad en las características físico-químicas de la albahaca (*Ocimum basilicum*) seca. Honduras: Universidad Zamorano; 2010.
26. Lima S. Análisis de los rendimientos obtenidos de dos especies de eucalipto trabajados en seco a nivel laboratorio y a nivel planta piloto en la extracción de su aceite esencial. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2005.
27. Sánchez E, MI, López L, Fuentes L, Rodríguez C. Estudio farmacognóstico de *ocimum basilicum* L. (albahaca blanca). Revista Cubana de Farmacia 2000;34(3):187-95.
28. Chirinos M, Velásquez R, Ascanio C, Mata J, Carrasqueño A. Obtención de aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) a partir de tejidos cultivados in vivo e in vitro. Revista de la Facultad de Agronomía Universidad del Zulia 2009;35(1):28-33.
29. Vermaa R, Padaliaa R, Chauhana A, Thulb S. Exploring compositional diversity in the essential oils of 34 *Ocimum* taxa from Indian flora. Industrial Crops and Products 2013;45:7-19.
30. ICONTEC. Análisis sensorial. Metodología. Guía general. NTC 3925 Bogotá: Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación; 1996.
31. Ramirez L, Marin D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia et Technica Año XV 2009(42):263-8.
32. Geng S, Cui Z, Huang X, Chen Y, Xu D, Xiong P. Variations in essential oil yield and composition during *Cinnamomum cassia* bark growth. Industrial Crops and Products 2011; 33:248-52.
33. Martínez M. Extracción y caracterización de aceite de nuez (*Juglans regia* L.): influencia del cultivar y de factores tecnológicos sobre su composición y estabilidad oxidativa. Cordoba Argentina: Universidad Nacional de Córdoba; 2010.
34. Zumbado H. Análisis químico de los alimentos: métodos clásicos. Universitaria E, editor. La Habana 2004.
35. García D, Pupo S, Crespo M, Fuentes L. Estudio farmacognóstico de *Ocimum gratissimum* L. (Orégano cimarrón). Revista Cubana de Plantas Medicinales 1998 ;3(1):31-6.
36. Cianguerotti C, Guillen J, Meccia G, Khouri N, L R. Análisis de los componentes mayoritarios del aceite esencial del *ocimum gratissimum* L. Revista de la Facultad de Farmacia 1999; 37:11-3.
37. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology 2004 August; 94 (3):223-53.
38. Bishnu J, Sunil L, Anuja S. Antibacterial Property of Different Medicinal Plants: *Ocimum sanctum*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Xanthoxylum armatum* and *Origanum majorana*. Kathmandu university journal of science, engineering and technology 2009; 5(1):143-50.
39. Comisión Europea. Health and Consumers. Cosmetic-cosing. Ingredient: *Ocimum Basilicum* Oil