

Artículo Original / Original Article

Aceite esencial de hojas de sunfo (*Clinopodium nubigenum* [Kunth] Kuntze) del Ecuador: Optimización del rendimiento, composición química y propiedades biológicas

[Sunfo leaf essential oil (*Clinopodium nubigenum* [Kunth] Kuntze) from Ecuador: Yield optimization, chemical composition and biological properties]

Jaime O. Rojas-Molina¹, Jorge A. Pino^{2,3}, Sixto A. Gavilanez¹ & Jefferson Cl. Rogel¹

¹Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador

²Food Industry Research Institute, Havana, Cuba

³Pharmacy and Food Institute, University of Havana, Cuba

Reviewed by:
Omar Malagon
Universidad Tecnica Particular de Loja
Ecuador

Ana Vazquez
Universidad Católica de Cordoba
Argentina

Correspondence:
Jaime ROJAS
jaime.rojas@utc.edu.ec

Section Phychemistry

Received: 2 June 2024
Accepted: 1 January 2025
Accepted corrected: 6 April 2025
Published: 30 July 2025

Citation:
Rojas-Molina JO, Pino JA,
Gavilanez SA, Rogel JC.
Aceite esencial de hojas de sunfo (*Clinopodium
nubigenum* [Kunth] Kuntze) del Ecuador:
Optimización del rendimiento,
composición química y propiedades biológicas
Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat
24 (4): 550 - 560 (2025)
<https://doi.org/10.37360/blacpma.25.24.4.39>

Abstract: The objective of the study was to optimize the obtaining of essential oil (EO) by water-steam distillation from sunfo leaves (*Clinopodium nubigenum* [Kunth] Kuntze) from Ecuador, as well as to characterize its composition and biological properties. The distillation time was analyzed, between 60 and 150 min, as well as the ratio between plant material/water, which ranged between 1:3 and 1:5. By increasing both factors the EO oil yield increased. The EO obtained with the optimized parameters presented a yield of 1.51%. Pulegone (43.30%), menthone (23.00%) and thymol (14.28%) were the major compounds. The antioxidant capacity of the EO was evidenced by the ferric reducing antioxidant power, where 190.83 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ was obtained, and ABTS radical elimination assays, with a IC_{50} of 0.10 mg/mL. In addition, the antimicrobial activity was evaluated based on the minimum inhibitory concentration, where effectiveness against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella enterica*, with MICs of 0.5-2.0 mg/L.

Keywords: *Clinopodium nubigenum*; Essential oil; Water-steam distillation; Yield optimization; Biological properties.

Resumen: El objetivo del estudio fue optimizar la obtención, mediante destilación con agua-vapor, del aceite esencial (AE) de hojas de sunfo (*Clinopodium nubigenum* [Kunth] Kuntze) del Ecuador, así como caracterizar su composición y propiedades biológicas. Se analizaron el tiempo de destilación, entre 60 y 150 min, así como la proporción de material vegetal/agua, que osciló entre 1:3 y 1:5. Al aumentar ambos factores se incrementó el rendimiento del AE. El AE obtenido con los parámetros optimizados presentó un rendimiento de 1.51%. Se encontraron como compuestos mayoritarios pulegona (43.30%), mentona (23.00%) y timol (14.28%). La capacidad antioxidante del AE se evidenció mediante los ensayos de poder antioxidante reductor férrico, donde se obtuvo 190,83 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$, y eliminación de radicales ABTS, con CI_{50} de 0.10 mg/mL. Además, se evaluó la actividad antimicrobiana en función a la concentración mínima inhibitoria, donde se demostró la efectividad contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enterica*, con CMI de 0.5 a 2.0 mg/L.

Palabras clave: *Clinopodium nubigenum*; Aceite esencial; Destilación con agua-vapor; Optimización del rendimiento; propiedades biológicas.

INTRODUCCIÓN

En el Ecuador, la combinación de diferentes factores geográficos, climáticos y geológicos formaron varios ecosistemas que sustentan una flora rica y diversa, por este argumento el país es considerado en el mundo uno de los lugares con mayor diversidad biológica por kilómetro cuadrado con aproximadamente 25 000 especies de plantas vasculares, muchas de las cuales son endémicas (Myers *et al.*, 2000). La alta diversidad biológica y cultural, hace que el país tenga un alto potencial en medicina ancestral (Noriega *et al.*, 2018). Solo una pequeña cantidad de la biodiversidad es conocida, donde se ha estudiado a detalle sus propiedades y potencialidades para beneficio de los seres humanos (Estrella, 2005; Noriega *et al.*, 2018). El estudio de la composición química y las propiedades biológicas de las plantas, permite identificar las posibles aplicaciones del material vegetal en los campos de la medicina, alimentación, industria y preservación del medio ambiente.

Las plantas producen compuestos químicos que se denominan metabolitos secundarios, donde se destacan los alcaloides, flavonoides, terpenos, fenoles, entre otros; los que han sido utilizados en la medicina ancestral para tratar afecciones que van desde dolores de cabeza hasta enfermedades crónicas como la diabetes y cáncer. Estos compuestos pueden actuar como antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos y anticancerígenos, entre otras propiedades beneficiosas para la salud (Lautié *et al.*, 2020). Algunos de estos metabolitos forman parte de los aceites esenciales (Sell, 2020).

Los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles extraídos de plantas que, en muchos casos, poseen actividades biológicas, donde se destacan las propiedades antioxidantes y antimicrobianas, que pueden ser aprovechadas por la industria (Bakkali *et al.*, 2008; Sell, 2020). Los aceites esenciales pueden obtenerse mediante diferentes métodos: destilación con agua o hidrodestilación, destilación con agua-vapor y destilación por arrastre de vapor. El más frecuente es la destilación por arrastre con vapor, pues es más económico porque utiliza vapor sobresaturado y equipos fáciles de operar, así como evita el sobrecalentamiento del aceite esencial, lo que impide posibles cambios químicos (Bandoni, 2002; Stratakos & Koidis, 2016; Machado *et al.*, 2022).

Clinopodium nubigenum [Kunth] Kuntze (sin. *Micromeria nubigena* [Kunth] Benth), conocida popularmente en Ecuador como sunfo, es una planta

nativa de los países de Costa Rica, Panamá, Venezuela, Colombia, Perú y Ecuador, habitando en las zonas de páramo y montañas de la cordillera. En Ecuador, su distribución se extiende por la región de la sierra, presente en las provincias de Loja, Azuay, Chimborazo, Bolívar, Tungurahua, Cotopaxi, Imbabura y Carchi (Noriega *et al.*, 2018; Adela *et al.*, 2019). En las comunidades andinas, las hojas se utilizan tradicionalmente como infusión para regular la temperatura corporal, así como antiinflamatorio, expectorante y antiespasmódico. Esta planta se caracteriza por su contenido abundante de taninos, flavonoides, terpenos, triterpenos y esteroides (Gilardoni *et al.*, 2011; Castillo-García, 2020).

Varios autores se han enfocado en la investigación de los compuestos químicos del aceite esencial de *C. nubigenum* (El-Seedi *et al.*, 2008; Ruiz *et al.*, 2010; Gilardoni *et al.*, 2011; Noriega *et al.*, 2018; Bedini *et al.*, 2019); sin embargo, la mayor parte de las extracciones fueron realizadas por hidrodestilación, salvo una que fue por destilación por arrastre con vapor, pero no se detallan los parámetros (Noriega *et al.*, 2018). El presente trabajo tuvo como objetivo optimizar la obtención del aceite esencial de hojas de sunfo (*Clinopodium nubigenum* [Kunth] Kuntze) por destilación con agua-vapor, así como caracterizar su composición, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección del material vegetal

Las hojas del sunfo fueron recolectadas con la planta en su ciclo de floración, en la provincia de Cotopaxi, ciudad de Latacunga, parroquia Ignacio Flores (3080 msnm) en mayo 2022. Posteriormente se seleccionó el material vegetal libre de enfermedades o alteraciones morfológicas. Las hojas se cortaron en trozos de aproximadamente 1 cm². Una muestra de referencia de la especie fue depositada en la Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC) con el código de herbario UTCEC00000820.

Diseño experimental

Con el programa Design Expert 8.0.6 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, USA) se elaboró el diseño experimental y tratamiento de los datos de la obtención del aceite esencial, donde el rendimiento fue la variable de respuesta. La optimización numérica se realizó mediante el diseño de respuesta IV Óptimo. Los factores evaluados fueron el tiempo de destilación (X_{DES}) en el intervalo de 60 a 150 min (tomando como tiempo cero el inicio de la destilación) y la

relación material vegetal/agua destilada (X_{RMA}) entre 1:3 y 1:5. El número total de corridas experimentales fue de 17.

Optimización de la obtención del aceite esencial

La obtención del aceite esencial se hizo en un equipo de acero inoxidable para destilación con agua-vapor modelo LP-10L (Lanphan Ltd., China), donde el vapor de agua saturado pasa a través del material vegetal soportado en una rejilla de acero inoxidable. Las condiciones de operación fueron seleccionadas de otras investigaciones similares (Quezada-Moreno et al., 2019; Rojas-Molina et al., 2024). La mezcla aceite esencial y agua se recogió en un matraz

adaptado a un separador, se separó el aceite esencial, después de secarlo con sulfato de sodio anhidro, se procedió a filtrar y envasar en frascos de vidrio oscuro, para almacenarlo a 5°C hasta su análisis.

Evaluación del rendimiento del proceso de obtención del aceite esencial

Para establecer las condiciones óptimas del modelo matemático se hicieron experimentos a las condiciones del diseño de superficie de respuesta. El rendimiento se calculó por la relación entre la masa del aceite esencial obtenido y la masa del material vegetal, según la ecuación 1.

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

Evaluación de la composición química del aceite esencial

La GC-FID se realizó en un equipo Hewlett-Packard 6890N serie II (Agilent, Santa Clara, CA, USA) con una columna DB-5ms (30 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 µm, J & W Scientific, Folsom, CA, USA). Se utilizaron las siguientes condiciones para el análisis: temperatura del horno se programó de 70°C (después de 2 min) a 250°C a 4°C y se mantuvo durante 10 min. Las temperaturas del inyector y del FID se fijaron en 250°C. Gas portador helio 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 cuantificación de los compuestos se hizo a partir del porcentaje relativo de abundancia.

En el análisis por GC-MS se utilizó en un equipo Agilent Technologies 5975 (Agilent, Santa Clara, CA, USA) provisto de columnas DB-5ms (30 m x 0.25 mm d.i. x 0.25 µm, J & W Scientific, Folsom, CA, USA) y DB-Wax (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm; J & W Scientific, Folsom, CA, USA). 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 durante 5 min con helio de 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 espectrometría de masas se obtuvieron con un voltaje de ionización de 70 eV y tiempos de escaneo de 1.5 s en el intervalo de masas de 35 a 400 Dalton. La identificación se realizó por comparación de los espectros de masas de los compuestos con los de estándares auténticos, así como también basándose en la comparación de sus patrones de fragmentación

en los espectros de masas con los de bases comerciales (NIST 05, Wiley 6, Adams 2007 y NBS 75). Además, los índices de retención lineal (van Den Dool & Kratz, 1963) determinados con referencia a series homólogas de *n*-alcanos (C_8 - C_{24}), se compararon con los de la base de datos de referencia del NIST (<https://webbook.nist.gov/chemistry>).

Evaluación de la capacidad antioxidante

Se evaluó por los métodos de FRAP y ABTS. Para elaborar el reactivo de FRAP se emplearon 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. El reactivo FRAP se preparó diariamente mezclando las disoluciones anteriores de ácido acético, cloruro férrico y TPTZ en proporción de volumen de 10:1:1, respectivamente. 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, donde se estableció un rango de concentración de 100 a 1000 µM de Fe^{2+} . Para la determinación se prepararon disoluciones conocidas del aceite esencial (1, 2 y 4 mg/mL). Se pesó 1 g de la disolución de aceite 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 estándares de la curva de calibración a 593 nm. Se utilizó una solución de ácido ascórbico como estándar y Trolox como control positivo. Los resultados se expresaron en µmol Fe^{2+} /g (Najibullah et al., 2021).

El principio de la técnica de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazol)-6-sulfónico) radica

en la medición de la disminución de la intensidad del color del radical, debido a la presencia de compuestos fenólicos que actúan como donantes de hidrógeno o electrones (Cano *et al.*, 2023). Se llevó a cabo según el procedimiento descrito por Kuskoski *et al.* (2004). Para preparar la solución del radical ABTS^{•+}, se combinaron 5 mL de disolución ABTS 7 [mM] y 88 µL de solución de persulfato de potasio 140 mM. Se tomaron 100 µL de la muestra y se mezclaron con 1 mL de la solución del radical ABTS^{•+}. Esta mezcla se diluyó en un buffer de ácido acético-acetato de sodio (pH=5) hasta que la absorbancia alcanzara aproximadamente 0.7 a 734 nm. Para la determinación se prepararon diluciones conocidas del aceite esencial en metanol en el rango de concentración de 0.05 a 0.5 mg/mL. Se añadieron 100 µL de las disoluciones de aceite esencial a 1 mL de solución ABTS^{•+}. La absorbancia, después de 10 min, se midió a 734 nm. Se utilizó el antioxidante sintético de referencia Trolox a una concentración de 50 a 700 µmol/L en metanol como control positivo. Los análisis se realizaron por triplicado. La capacidad de eliminación de radicales libres se cuantificó en términos de CI₅₀ (mg/mL), que representa la concentración necesaria para neutralizar el 50% de los radicales ABTS^{•+}.

Determinación de la actividad antimicrobiana

Se hizo con cepas bacterianas certificadas que forman parte del catálogo 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). La actividad antimicrobiana *in vitro* del aceite esencial se evaluó mediante el ensayo de difusión en disco de agar y la determinación de concentraciones mínima inhibitoria (CMI) según las pautas del CLSI, para las cepas microbianas sensibles (Wikler *et al.*, 2021). Se elaboró un medio de cultivo con agar Mueller-Hinton y una solución de Tween 20, los que fueron esterilizados previamente en autoclave. Con los componentes antes citados, en cajas Petri se prepararon medios de cultivo con concentraciones del aceite esencial de 0, 0.1, 0.5, 1, 3 y 5%. Con el empleo de un asa de Digralsky se extendieron en la superficie del medio 10 µL de inóculo bacteriano que se dejó en una incubadora

bacteriológica Biocell modelo M345 a 37°C por 48 h. Se utilizaron discos de ciprofloxacina (30 µg) como control positivo bacteriano.

RESULTADOS

Optimización de la obtención del aceite esencial

Los datos obtenidos mediante un diseño de superficie de respuesta se presentan en la matriz experimental (Tabla N° 1), donde se aprecian las 17 corridas experimentales de las combinaciones establecidas por el modelo matemático en función a la variable de respuesta rendimiento. La Tabla N° 2 muestra los parámetros codificados para el modelo ajustado a una relación lineal que resultó significativo para un nivel de confianza del 95%. Los factores relación material vegetal/agua (X_{RMA}) y tiempo de destilación (X_{DES}) resultaron significativos. El coeficiente de determinación (R^2) indicó que el modelo ajustado explica el 93,8% de variabilidad del rendimiento.

La relación masa/agua y tiempo de destilación son factores significativos ($p \leq 0.05$); confirmando que los coeficientes tienen una relación directa en la determinación del rendimiento. En la Figura N° 1 se presenta la interacción entre ambos factores sobre el rendimiento, donde se aprecia que la variabilidad de los coeficientes influyó directamente en la determinación del rendimiento, notándose que el rendimiento aumentó cuando la relación material vegetal/agua y el tiempo de destilación se incrementaron.

La optimización numérica del rendimiento se ejecutó debido al buen ajuste del modelo. Con un tiempo de destilación de 150 min y una relación masa/agua de 1:5 se obtuvieron las mejores condiciones, con un resultado de la función deseabilidad de uno, que es lo ideal. Como fue un extremo del diseño, se hicieron experiencias con la relación 1:5 a 160 min y la relación 1:6 a 170 min, y se obtuvieron los mismos rendimientos del mejor punto experimental. Por esta razón, la combinación de relación masa/agua de 1:5 y tiempo de destilación 150 min fue seleccionada como la más adecuada para la obtención del aceite esencial.

Para validar la optimización numérica se realizó la experimentación a las mejores condiciones y se comparó con el valor predicho, obteniéndose 1.51 y 1.52% m/m, respectivamente, logrando semejanzas entre el valor experimental y predicho.

Tabla N° 1
Matriz experimental para la obtención 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 parte de material vegetal/3 partes de agua (1:3)

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

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

Tabla N° 2
Parámetros del modelo codificado para el rendimiento

Indicador	Rendimiento (%)
Intercepto	1.08
X _{DES}	0.28*
X _{RMA}	0.16*
X _{DES-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; X_{DES}: tiempo de destilación.

*Valor significativo para $p \leq 0.01$

Caracterización de la composición del aceite esencial

La Tabla N° 3 muestra los resultados analíticos donde se identificaron 22 compuestos que representan la

totalidad de la composición química. Se encontraron tres compuestos mayoritarios donde se destacan la pulegona, mentona y timol.

Tabla N° 3
Composición química del aceite esencial de sunfo

Compuesto	IRL _{DB-5ms}	IRL _{DB-Wax}	%
α -Pineno*	938	1035	0.25
β -Pineno*	980	1118	0.33
<i>p</i> -Cimeno*	1025	1254	4.50
Limoneno*	1031	1208	1.19
γ -Terpineno*	1060	1274	0.77
Linalol*	1097	1542	3.55
Acetato de 1-octen-3-ilo	1110	1421	2.27
Mentona*	1151	1473	23.00
<i>trans</i> -Isopulegona	1156	1596	0.63
<i>cis</i> -Isopulegona	1173	1587	0.79
Pulegona*	1239	1654	43.30
Timol*	1290	2153	14.28
Carvacrol*	1299	2221	0.63
Piperitenona*	1341	1919	0.62
Acetato de citronelilo*	1353	1658	0.97
Biciclogermacreno*	1500	1769	0.48
δ -Cadineno*	1523	1758	0.58
Espatuleno*	1578	2132	0.06
Isoespatuleno	1639	2231	0.10

IRL: índice de retención lineal experimental. *Compuesto identificado con patrón

Determinación de la capacidad antioxidante del aceite esencial

Los métodos de determinación química se fundamentan en la capacidad de los antioxidantes para neutralizar los radicales libres y proteger a las células del daño oxidativo. Los resultados de capacidad antioxidante del aceite esencial sunfo por

las metodologías de FRAP y ABTS son expuestos en la Tabla N° 4. Para la metodología de FRAP se midió la capacidad antioxidante de disoluciones de concentración creciente del aceite (1, 2 y 4 mg/mL), donde se puede observar una relación directa y proporcional entre la concentración de aceite esencial y la capacidad antioxidante.

Tabla N° 4
Análisis de FRAP y ABTS

Muestra	ABTS	FRAP
	CI ₅₀ (mg/mL)	Concentración (mg/mL)
		$\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$
Aceite esencial	0.10 (0.03)	4
		2
		1
Trolox	0.02 (0.01)	0.5

Determinación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial

Los resultados de la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de sunfo se presentan en la Tabla N° 5, utilizando la metodología de

concentración mínima inhibitoria frente a las bacterias. La efectividad del aceite esencial se encontró que el rango de 0.5% a 2%. Se puede observar que el aceite esencial de sunfo inhibe la concentración de determinadas cepas bacterianas.

Tabla N° 5
Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de sunfo

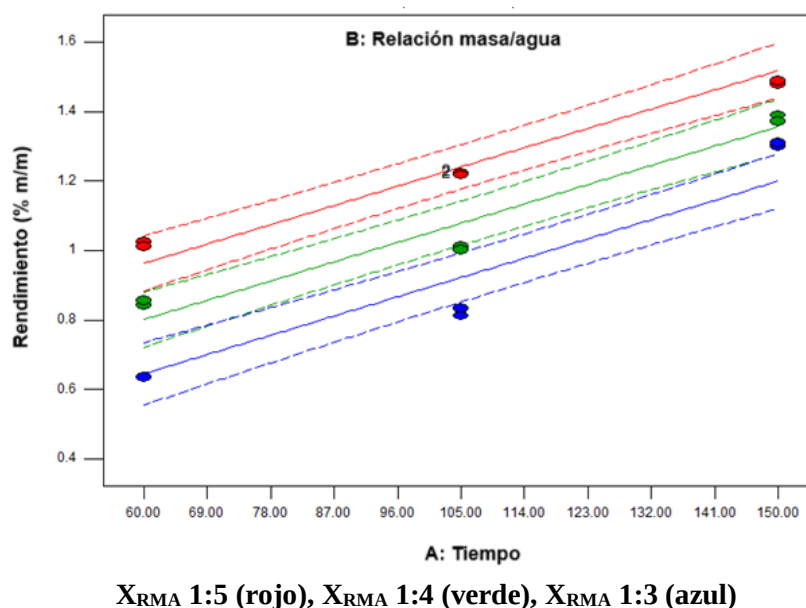
Microorganismo	Aceite esencial (CMI (mg/L))	Ciprofloxacina CMI (mg/L)
<i>Salmonella enterica</i>	2.0	2.5
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	1.0	2.0
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	0.5	1.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 39327)	0.5	18.0

DISCUSIÓN

Los componentes químicos y el rendimiento en la destilación del aceite esencial son afectados por diversos factores, como la dimensión de las partículas del material vegetal, el método y tiempo de destilación, así como la proporción entre el material vegetal y agua. Por esta razón, se valoraron intervalos de tiempo de destilación (60 a 150 min) y la relación entre el material vegetal/agua (1:3 a 1:5), con un diseño IV óptimo de superficie de respuesta. La Figura N° 1 muestra un modelo lineal simple en el

que la interacción de los factores cuantitativos evaluados (X_{RMA} y X_{DES}) es positiva, donde se observa un aumento significativo del rendimiento al incrementar la relación material vegetal/agua y tiempo de destilación. Esto posibilita la adopción de medidas y elecciones orientadas a mejorar el rendimiento de los procesos. Un incremento de X_{RMA} conduce a un mayor volumen de agua que garantiza el vapor de agua suficiente en el proceso durante el tiempo de destilación, lo que causa un aumento en el rendimiento de la destilación del aceite esencial.

Figura N° 1
Interacción entre los factores X_{RMA} : relación masa/agua y X_{DES} : tiempo de destilación



El rendimiento de 1.51% m/m encontrado en las mejores condiciones de la destilación con agua-vapor fue superior al 0.86% m/m informado en hojas y flores (El-Seedy *et al.*, 2008), 1.35% m/m reportado en hojas (Ruiz *et al.*, 2010), 1% m/m (Gilardoni *et al.*, 2011) y 0.27% m/m (Noriega *et al.*, 2018), ambos determinados en partes aéreas. No obstante, considerar este resultado como positivo, debe tenerse en cuenta que el rendimiento de aceite esencial de las plantas puede fluctuar en función de diversos factores, como la especie vegetal, el lugar y momento de la recolección, la edad de la planta, así como los factores abióticos como las condiciones climáticas a las que esté sometida la planta, método de obtención del aceite esencial, entre otros (Verma y Shukla, 2015).

En el aceite esencial de sunfo se identificaron 19 compuestos químicos que representan el 98.33% de la composición total, siendo la pulegona (43.30%), mentona (23.00%) y timol (14.28%) los compuestos mayoritarios.

En la literatura existe algunos trabajos que analizaron la composición química del aceite esencial de sunfo, obtenidos por distintos métodos de destilación, con material vegetal de diferentes partes de la planta recolectado en diferentes regiones del Ecuador y variado ciclo vegetativo de la planta: A partir de hojas y flores recolectadas en la provincia de Pichincha se encontraron al timol (36.9%), carvacrol (16.7%) y pulegona (10.8%) como compuestos mayoritarios (El-Seedy *et al.*, 2008). Por su parte, Ruiz *et al.* (2010) reportaron como predominantes al acetato de carvacrilo (38.1%), carvacrol (29.0%) y *p*-cimeno (6.6%) en hojas de plantas en ciclo vegetativo no declarado y recolectadas en la provincia de Loja. En la misma provincia, Gilardoni *et al.* (2011) encontró en el aceite esencial de hojas de plantas en ciclo no florecido como mayoritarios a la pulegona (72.79%), linalol (7.00%) e isopulegona (4.74%). A partir de partes aéreas de plantas, en estado vegetativo no declarado, recolectadas en la provincia de Pichincha reportaron al acetato de carvacrilo (40.95%), carvacrol (21.21%), pulegona (6.09%) y timol (5.67%) como compuestos mayoritarios (Noriega *et al.*, 2018). El trabajo más reciente se debe a Bedini *et al.* (2019), que en el aceite esencial de hojas y flores de plantas recolectadas en la provincia de Imbabura informaron como predominantes al carvacrol (32.9%), pulegona (25.4%), *p*-cimeno (9.1%) e isomentona (6.4%).

Existe la duda de que estas plantas sean de la misma especie, pues la comparación de los resultados

de este trabajo con los datos reportados por los otros autores muestra claramente diferencias dramáticas en la composición de los aceites esenciales. No obstante, además de las diferencias en las especies o la existencia de variedades botánicas, otros factores, entre los que destacan el clima, el suelo, el período de cosecha y el ciclo vegetativo, y el método de obtención de los aceites esenciales, puede explicar los diferentes contenidos químicos de los aceites esenciales.

La pulegona es una cetona monoterpénica con olor agradable que tiene un mayor valor comercial en la industria alimentaria como agente antimicrobiano (Torossi, 2021). Su toxicidad se conoce desde la antigüedad, lo que sugiere sus propiedades insecticidas y repelentes. Este compuesto a determinadas dosis se considera hepatotóxica y potencialmente cancerígena en ratones (Carvajal *et al.*, 2017). Para la aplicación de este compuesto en matrices alimentarias se debe determinar la dosis segura de ingesta en humanos y animales. Por su parte, la mentona es una cetona monoterpénica con un aroma distintivo, que se encuentra en muchos aceites esenciales. Este compuesto posee propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Torossi, 2021). Por otro lado, el timol es un fenol con un olor característico, presente en los aceites esenciales y que exhibe potencial desinfectante, antioxidante y antimicrobiano (Marchese *et al.*, 2016).

La Tabla N° 4 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 CI_{50} , lo que es superior a la investigación realizada con el aceite esencial de la misma planta donde se obtuvo una CI_{50} de 0.3 mg/mL (Noriega *et al.*, 2018).

En la Tabla N° 3 se observa como compuestos principales del aceite esencial a la pulegona, mentona y timol, los posibles agentes antioxidantes sobre los que existe referencia de su actividad (Erazo, 2017; Torossi, 2021). 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 son los responsables de los efectos biológicos (Shakeri *et al.*, 2012; Ksouri *et al.*, 2017; Noriega *et al.*, 2018). Los resultados de la actividad antioxidante del aceite esencial de *C. nubigenum* pueden considerarse interesantes en comparación con el compuesto sintético Trolox utilizado como

antioxidante estándar.

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* (ATTC 25922) > *Pseudomonas aeruginosa* (ATTC 39327) > *Staphylococcus aureus* (ATTC25923) > *Salmonella enterica*. 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 *Escherichia coli* (6.22), *Pseudomonas aeruginosa* (8.38) y *Staphylococcus aureus* (7.92) (Noriega et al., 2018). Los compuestos mayoritarios del aceite esencial, como la pulegona, mentona y timol, presentan actividad antimicrobiana (Erazo, 2017; Mena y Salas, 2022).

La pulegona, mentona y timol son compuestos químicos que pertenecen al grupo de los terpenos. Los terpenos pueden alterar el ensamblaje lipídico de las bacterias, lo que lleva a la desintegración de la membrana celular, desnaturalización de las proteínas celulares, fuga de material citoplasmático, que en última instancia causa lisis y muerte celular. Además, la interacción con las proteínas de la membrana y fosfolípidos, lleva a la

inhibición de la cadena respiratoria celular, interrupción de la fosforilación oxidativa, disminuye la síntesis de ácidos nucleicos y evita la absorción de oxígeno en las células microbianas, inhibiendo así el crecimiento microbiano (Angane et al., 2022).

CONCLUSIONES

La optimización de los parámetros de la destilación con agua-vapor para obtener aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum* [Kunth] Kuntze) indicó que con un tiempo de destilación de 150 min y una relación masa/agua de 1:5 se lograron las mejores condiciones con un máximo rendimiento. En el aceite esencial se detectaron 19 compuestos mayoritarios, donde predominan la pulegona (43.30%), mentona (23.00%) y timol (14.28%). El aceite esencial presentó alta actividad antioxidante por las metodologías de FRAP y ABTS, obteniéndose valores de 190.83 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g}$ y 0.10 mg/mL este expresado en CI_{50} , respectivamente. La actividad antimicrobiana del aceite esencial mostró efectividad contra cepas bacterianas de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enterica*. Se comprobó que el aceite esencial de sunfo obtenido con los parámetros optimizados posee propiedades biológicas, mostrando una alta capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana.

REFERENCIAS

- Adela CA. 2019. **Aprovechamiento agroindustrial de la planta de sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth-Kuntze), para la elaboración de una tisana aromática.** Tesis, Universidad Nacional de Chimborazo, Ecuador.
- Angane M, Swift S, Huang K, Butts CA, Quek SY. 2022. Essential oils and their major components: An updated review on antimicrobial activities, mechanism of action and their potential application in the food industry. **Foods** 11: 464. <https://doi.org/10.3390/foods11030464>
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils, a review. **Food Chem Toxicol** 46: 446 - 475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Bandoni A. 2002. **Los recursos vegetales aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores.** Ed. Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (Cyted), Buenos Aires, Argentina.
- Bedini S, Flamini G, Cosci F, Ascrizzi R, Echeverría MC, Gomez EV, Guidi L, Landi M, Lucchi A, Conti B. 2019. Toxicity and oviposition deterrence of essential oils of *Clinopodium nubigenum* and *Lavandula angustifolia* against the myiasis-inducing blowfly *Lucilia sericata*. **Plos One** 14: e0212576. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212576>
- Cano A, Maestre AB, Hernández-Ruiz J, Arnao MB. 2023. ABTS/TAC Methodology: Main milestones and recent applications. **Processes** 11: 185. <https://doi.org/10.3390/pr11010185>
- Carvajal F, Huanca A, González-Teuber M, Urzúa A, Echeverría J. 2017. Uses of hazardous medicinal plants: composition of the essential oil of *Clinopodium gilliesii* (Benth.) Kuntze (Lamiaceae), collected in Chile. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 16: 486 - 492.
- Castillo-García DJ. 2020. **Caracterización de los compuestos bioactivos del sunfo (*Clinopodium nubigenum*), con propósitos agroindustriales.** Tesis, Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.

- El-Seedi HR, Khattab A, Gaara AHM, Mohamed TK, Hassan NA, El-Kattan AE. 2008. Essential oil analysis of *Micromeria nubigena* H.B.K. and its antimicrobial activity. **J Essent Oil Res** 20: 452 - 456. <https://doi.org/10.1080/10412905.2008.9700057>
- Erazo J, Arroyo F, Arroyo D, Castro M, Santacruz S, Armas A. 2017. Efecto antimicrobiano del cinamaldehído, timol, eugenol y quitosano sobre cepas de *Streptococcus mutans*. **Rev Cub Estomatol** 54: 1 - 9.
- Estrella J. 2005. **Biodiversidad y recursos genéticos: una guía para su uso y acceso en el Ecuador**. Editorial Abya Yala, Ecuador.
- Gilardoni G, Malagon O, Morocho V, Negri R, Tosi S, Guglielminetti M, Vidari G, Finzi PV. 2011. Phytochemical researches and antimicrobial activity of *Clinopodium nubigenum* Kunth (Kuntze) raw extracts. **Rev Bras Farmacogn** 21: 850 - 855.
- Ksouri R, Falleh H, Trabelsi N, Mhamdi B, Ksouri WM, Magne C. 2017. Essential oils: Their potential as allelochemical agents. **Allelopathy J** 40: 203 - 222.
- Kuskoski EM, Asuero AG, García-Parilla MC, Troncoso AM, Fett R. 2004. Antioxidant activity of anthocyanin pigments. **Food Sci Technol** 24: 691 - 693. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612004000400036>
- Lautié E, Russo O, Ducrot P, Boutin JA. 2020. Unraveling plant natural chemical diversity for drug discovery purposes. **Front Pharmacol** 7: 397. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00397>
- Machado CA, Oliveira FO, de Andrade MA, Hodel KVS, Lepikson H, Machado BAS. 2022. Steam distillation for essential oil extraction: An evaluation of technological advances based on an analysis of patent documents. **Sustainability** 14: 7119. <https://doi.org/10.3390/su14127119>
- Marchese A, Orhan IE, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi SF, Gortzi O, Izadi M, Nabavi SM. 2016. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. **Food Chem** 210: 402 - 414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>
- Mena G, Salas E. 2022. **Extracción del aceite esencial de sunfo (*Clinopodium nubigenum* Kunth Kuntze) por el método de arrastre de vapor, para su caracterización química, antioxidante y microbiológica**. Tesis, Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Da Fonseca GA, Kent J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** 403: 853 - 858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Najibullah SNM, Ahamad J, Aldahish AA, Sultana S, Sultana S. 2021. Chemical characterization and α -glucosidase inhibitory activity of essential oil of *Lavandula angustifolia* flowers. **J Essent Oil-Bear Plants** 24: 431 - 438. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1942233>
- Noriega PF, Angeles-Mosquera TDLA, Osorio EA, Guerra P, Fonseca A. 2018. *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze essential oil: Chemical composition, antioxidant activity, and antimicrobial test against respiratory pathogens. **J Pharmacogn Phytother** 10: 149 - 157. <https://doi.org/10.5897/JPP2017.0467>
- Quezada-Moreno WF, Quezada-Torres WD, Gallardo-Aguilar I, Cevallos-Carvajal E, Arias-Palma G, Travez-Castellano A, Zambrano-Ochoa, Z, Rojas-Molina JO. 2019. Extraction and chemical characterization of the essential oil of *Tagetes pusilla*, in fresh and stored samples. **Afinidad** 76: 588.
- Rojas-Molina JO, Pino JA, Cevallos-Carvajal ER, Zambrano-Ochoa ZE, Vaca-Castro CE, Molina-Borja FA, Mena-Herrera KR. 2024. Aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* [HBK] Griseb. del Ecuador: Extracción, composición química, capacidad antioxidante y actividad antimicrobiana. **Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat** 23: 437 - 447. <https://doi.org/10.37360/blacpma.24.23.3.30>
- Ruiz S, Malagón O, Zaragoza T, Valarezo E. 2010. Composition of the essential oils of *Artemisia sodiroi* Hieron., *Siparuna eggersii* Hieron., *Tagetes filifolia* Lag. and *Clinopodium nubigenum* (Kunth) Kuntze from Loja Ecuador. **J Essent Oil-Bear Plants** 13: 676 - 691. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2010.10643879>
- Sell C. 2020. **Chemistry of essential oils**. In Baser KHC, Buchbauer G: Handbook of essential oils. Science, Technology, and Applications. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Shakeri A, Hazeri N, Vlizadeh J, Ghasemi A, Tavallaei F. 2012. Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. extracts. **Kragujevac J Sci** 39: 43 - 54.
- Stratakis AC, Koidis A. 2016. **Methods for extracting essential oils**. In Preedy VR. Essential oils in food preservation, flavor and safety. Academic Press, London, UK.
- Torossi FD. 2021. **Reacciones destinadas a disminuir el contenido de (R)-pulegona en aceites esenciales de menta de uso alimenticio**. Tesis, Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED). España.
- van Den Dool H, Kratz PD. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature

programmed gas-liquid partition chromatography. **J Chromatogr** 11: 463 - 471.

[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)80947-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X)

Verma N, Shukla S. 2015. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. **J Appl Res Med Aromat Plants** 2: 105 - 113. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.09.002>

Wikler MA, Cockerill FR, Craig WA, Dudleym MN, Eliopoulos GM, Hecht DW, Hindler JF, Low DE, Zi-Min C, Jian-Qing P, Yi Ch, Ling T, Yan-Yan Z, Ling-Yun F, Qing-De L, Xiang-Chun S. 2021. 1,8-Cineole: a review of source, biological activities, and application. **J Asian Nat Prod Res** 23: 938 - 954.