

Actividad antibacteriana in vitro del extracto y aceite esencial de hojas de Muña

In vitro antibacterial activity of Muña leaves extract and essential oil

Jans Velarde Negrete^{1,a}, Max Escobar Hinojosa^{1,b}, Moya Pucho Víctor^{1,c}, Magaly Espinoza Antezana^{1,d}, David Veizaga Orellana^{1,e}, Karen Balderrama Canaza^{1,f}

Recibido el
11 de septiembre 2023
Aceptado
20 de mayo 2024

¹Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia.

^aMSc en Bioquímica Clínica y Microbiología,
<https://orcid.org/0000-0001-5664-9528>

^bMSc en Química de Productos Naturales,
<https://orcid.org/0000-0001-9738-0318>
marck144@gmail.com

^cEspecialista en Inmunología,
<https://orcid.org/0000-0003-3820-0828>
viko.mp92@gmail.com

^dMSc en Microbiología Clínica,
<https://orcid.org/0000-0003-0422-4418>
microbiologamagaly@gmail.com

^eEstudiante del Centro de Fármacos Alimentos y Cosméticos (CEFAC),
<https://orcid.org/0009-0002-4375-1632>
veizagadavid374@gmail.com

^fAuxiliar del Laboratorio de Biología Molecular,
<https://orcid.org/0009-0007-3030-3511>
karenbalderramacanaza@gmail.com

*Correspondencia:
Jans Velarde Negrete
Correo electrónico:
ja.velarde@umss.edu.bo

Doi:
<https://doi.org/10.47993/gmbv47i1>

Resumen

Objetivo: comparar la actividad antibacteriana in vitro del extracto y del aceite esencial de hojas de muña (*Minthostachys mollis*) frente a dos géneros y cinco cepas bacterianas patógenas. **Materiales y métodos:** estudio experimental, enfoque cuantitativo, método modificado de pozos en agar de Kirby-Bauer utilizado para medir la actividad antibacteriana. **Resultados:** el rendimiento del aceite esencial fue del 1,19%. El aceite esencial al 100% fue más efectivo para inhibir el crecimiento del *S. aureus*, *Proteus spp*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. aeruginosa* con medias de halos de inhibición de 27 mm, 25 mm, 22 mm, 21 mm y 20 mm mayores al del extracto y la doxiciclina. A su vez, inhibió el crecimiento del *E. faecalis* y *Enterobacter spp*, con mayor efectividad en comparación al extracto, doxiciclina y ciprofloxacina. Por otro lado, se observó diferencias significativas de medias de inhibición en al menos 2 de los grupos analizados con un $p < 0,05$ y 95% de confianza, del ANOVA de un factor de Tukey y de Kruskal-Wallis. **Conclusiones:** el *Proteus spp*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. aeruginosa* fueron inhibidas por el aceite esencial de muña al 100% con mayor efectividad que por el extracto y la doxiciclina. De igual modo, en comparación con el extracto y los antimicrobianos, el aceite fue el único que frenó eficazmente el crecimiento del *Enterobacter spp.* y *E. faecalis*.

Palabras claves: Aceite esencial, actividad antibacteriana, Kirby-Bauer, *Minthostachys mollis*

Abstract

Objective: to compare the in vitro antibacterial activity of the extract and essential oil of pineapple (*Minthostachys mollis*) leaves against two genera and five pathogenic bacterial strains. **Materials and methods:** experimental study, quantitative approach, modified Kirby-Bauer agar well method used to measure antibacterial activity. **Results:** the essential oil yield was 1.19%. The 100% essential oil was more effective in inhibiting the growth of *S. aureus*, *Proteus spp*, *K. pneumoniae*, *E. coli* and *P. aeruginosa* with mean inhibition halos of 27 mm, 25 mm, 22 mm, 21 mm and 20 mm greater than that of the extract and doxycycline. In turn, it inhibited the growth of *E. faecalis* and *Enterobacter spp*, with greater effectiveness compared to the extract, doxycycline and ciprofloxacin. On the other hand, significant differences in inhibition means were observed in at least 2 of the groups analyzed with a $p < 0.05$ and 95% confidence, from Tukey's one-factor ANOVA and Kruskal-Wallis. **Conclusions:** *Proteus spp*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* and *P. aeruginosa* were inhibited by 100% essential oil of pineapple more effectively than by the extract and doxycycline. Similarly, compared to the extract and antimicrobials, the oil was the only one that effectively inhibited the growth of *Enterobacter spp.* and *E. faecalis*.

Keywords: essential oil, antibacterial activity, kirby-Bauer, *Minthostachys mollis*

Una de las principales causas de consulta médica y la principal justificación para dar recetas de antibióticos son las infecciones bacterianas¹. Empero, el uso indiscriminado o prolongado de estos medicamentos causa acrecentamiento de bacterias resistentes contra los antimicrobianos de empleo habitual. Por ello, Giono et al², sostiene que el incremento de la resistencia bacteriana es un problema que amenaza la salud.

Desde que el ser humano emplea las plantas para tratar, prevenir y mejorar diversas enfermedades³, éstas forman parte tanto de la historia antigua como de la moderna⁴, debido a que poseen propiedades farmacológicas que derivan de metabolitos secundarios sintetizados por la misma planta como es el caso de los aceites esenciales⁵, extraídos mediante: prensado, maceración, destilación por arrastre de vapor y otros métodos⁶.

Según Choque et al⁷, Bolivia ofrece una gran diversidad de plantas medicinales, con aproximadamente 3 000 especies identificadas, entre ellas la *Minthostachys mollis* más conocida con el nombre de muña, que en investigaciones realizadas por Armas et al⁸, y Campo et al⁹, atribuyen que el aceite esencial de esta planta posee efecto antibacteriano y antimicótico.

El objetivo principal de esta investigación fue comparar in vitro la actividad antibacteriana del extracto y el aceite esencial de las hojas de muña (*Minthostachys mollis*) para comprender y confirmar la actividad antibacteriana atribuida al aceite esencial de muña. La hipótesis planteada fue: el extracto y el aceite esencial de muña tienen una actividad antibacteriana in vitro similar contra dos géneros y cinco cepas bacterianas patógenas.

Materiales y métodos

Trabajo experimental in vitro, transversal, prospectivo y enfoque cuantitativo, realizado en el Centro de Fármacos Alimentos y Cosméticos, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Simón.

Material vegetal: dos kilogramos de hojas de *Minthostachys mollis* se recolectaron de un entorno montañoso, con clima templado correspondiente del municipio de Mizque ubicado al sud este del departamento de Cochabamba. Para la recolección de las hojas de muña se consideró: que sean de la misma área geográfica, con dimensiones de 2 cm de ancho por 3 cm de largo, que no presenten ningún daño.

Procesamiento: con solución de hipoclorito de sodio fueron desinfectadas las hojas de muña, secadas a 40 °C por 48 horas en una cámara climática, moliendas en un mortero de porcelana con un pilón y tamizadas en un tamiz de acero inoxidable.

Elaboración del extracto: se elaboró extracto etanólico al 10% mediante maceración, el cual fue filtrado a través de papel filtro en un embudo, concentrado en un rotavapor a 50 °C, 200 rpm de velocidad y una presión de vacío de 40 mbar, conservado en un refrigerado entre 2-8 °C de temperatura.

Obtención y rendimiento: mediante hidrodestilación por arrastre de vapor fue obtenido el aceite esencial, metodología utilizada por Huari¹⁰, con el método de Laura¹¹, se determinó el rendimiento en porcentaje, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{P2}{P1} 100$$

Donde:

P1: Peso en gramos de las hojas frescas.

P2: Peso en gramos del aceite esencial obtenido.

Control de calidad: a) Control organoléptico y fisicoquímico: se evaluaron el sabor, olor, color, aspecto, pH, índice de refracción y densidad en el aceite esencial.

Géneros de bacterias gram negativas: *Proteus spp.*, y *Enterobacter spp.*, **Cepas bacterianas: 1. Gram negativas:** cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli*, ATCC 27853 de *Pseudomonas aeruginosa* y ATCC 700603 de *Klebsiella pneumoniae*. **2. Gram positivas:** cepas ATCC 25923 de *Staphylococcus aureus* y ATCC 29212 de *Enterococcus faecalis*.

Preparación del inóculo: los inóculos bacterianos fueron preparados con base en lo recomendado por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) (12); por ello, entre tres a cuatro colonias se tomaron y suspendieron en disolución salina estéril, contenidas en tubos de ensayo hasta alcanzar una equivalencia en turbidez de 0,5 a escala de Mac Farland 1,5 x 10⁸ UFC/ml.

Preparación de las muestras y los controles: para alcanzar concentraciones del 100%, 75% y 50%, el extracto fue diluido con agua destilada y el aceite esencial con dimetilsulfóxido. Los controles positivos se diluyeron con agua destilada hasta concentraciones de 5 mg/ml para la ciprofloxacina, 30 mg/ml para la doxiciclina y la amoxicilina respectivamente. A continuación, se crearon grupos, incluyendo el Grupo 1 para 100% de extracto, el Grupo 2 para 75% de extracto, el Grupo 3 para 50% de extracto, el Grupo 4 para 100% de aceite esencial, el Grupo 5 para 75% de aceite esencial, el Grupo 6 para 50% de aceite esencial, el Grupo 7 para ciprofloxacina 5 mg/ml, el Grupo 8 para doxiciclina 30 mg/ml, el Grupo 9 para amoxicilina 30 mg/ml y el Grupo 10 para agua destilada (control negativo).

Según el método de pozos en agar Kirby-Bauer modificado descrito en el libro "Research in Plants of Medical Importance"¹³, la actividad antibacteriana se determinó sembrando con un hisopo estéril embebido en el inóculo bacteriano en agar Müller Hinton y dejándolo secar durante cinco minutos. A continuación, se hicieron pozos de 6 mm de diámetro en el agar con un sacabocados estéril de 6 mm, en los cuales se depositó 50 µl de cada una de las muestras, procedimiento realizado por triplicado para validar los resultados. Después, las placas de Petri se incubaron invertidas durante 24 horas a 37 °C en una estufa. Tras medir el diámetro de inhibición, se compararon con la escala de sensibilidad de Duraffourd (14): diámetro menos de 8 mm nula (-), entre ≥ de 8 mm y menos de 14 mm sensible (+), muy sensible (++) entre ≥ de 14 y menos de 20 mm y ≥ de 20 mm extremadamente sensible (+++).

Análisis estadístico: Los datos fueron recolectados mediante la técnica de revisión documentada, en una planilla elaborada en la que se incluyeron variables necesarias, para la realización del trabajo. Los datos fueron analizados en el programa estadístico SPSS versión 25, mediante el cual se calculó, describió y comparo las variables de estudio. Asimismo, se realizó la prueba de

Tabla 1. Aminoácidos activos identificados en los modelos y longitud de interacciones (Angstrom, Å).

Materia vegetal	Cantidad en gramos de materia prima	Cantidad en gramos de aceite esencial obtenido	% de rendimiento
Hojas frescas de <i>Minthostachys mollis</i>	267,31 g	Cantidad en ml: 3,5 ml Densidad: 0,9075 g/ml 3,5 ml * 0,9075 g/ml = 3,18 g	1,19%

Fuente: Elaboración propia.

contraste de normalidad de Shapiro-Wilk y la prueba estadística ANOVA de un factor de Kruskal-Wallis para variables con distribución no normal y la prueba de Tukey para variable con distribución normal, con el fin de comparar medias entre 3 o más grupos, con una significancia estadística de $p < 0,05$, al 95% de confianza.

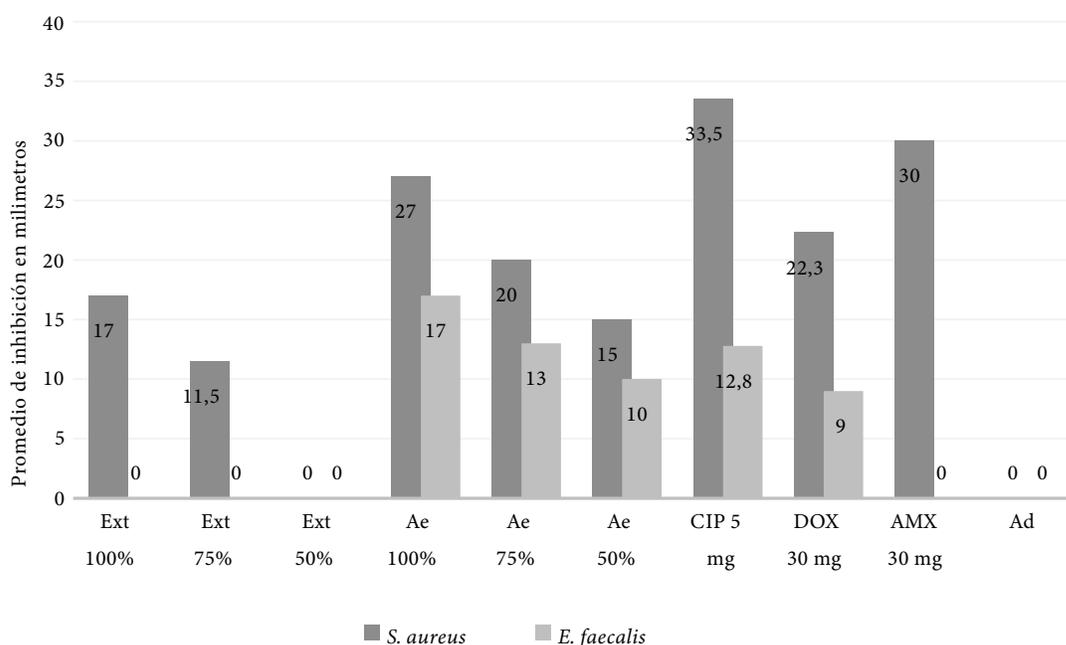
Análisis estadístico: se recogieron los datos a través de la técnica de revisión documentada e incorporaron a una hoja de cálculo elaborada. Se utilizó la herramienta estadística SPSS versión 25 para analizar, calcular y comparar las variables del estudio. Asimismo, se utilizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, para variables normales el ANOVA de Tukey y Kruskal-Wallis para variables no normales, para comparar medias entre tres o más grupos con una significación estadística de 0,05, al 95% de confianza.

Resultados

De las hojas de muña se obtuvo un aceite esencial de color ligeramente amarillo, aspecto oleoso, olor mentolado y sabor picante. Los parámetros fisicoquímicos fueron: densidad de 0,9075 g/ml, pH de 5,0 e índice de refracción de 1,4766 y 1,19% fue el rendimiento porcentual del aceite esencial obtenido (Tabla 1).

Según la escala de sensibilidad de Duraffour, los mayores diámetros de inhibición contra el crecimiento del *Staphylococcus aureus* fue para el aceite esencial al 100%, la amoxicilina y la ciprofloxacina con diámetros de 27 mm, 33,3 mm y 33,5 mm respectivamente. Además, el aceite al 100% demostró diámetros de inhibición muy sensibles de 17 mm contra el crecimiento del *E. faecalis* (Figura 1).

El aceite esencial al 100% y la ciprofloxacina, presentaron mayores diámetros de inhibición contra el crecimiento del *Proteus spp.*, *K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. aeruginosa*, los cuales fueron mayores a 20 mm, resultados sumamente sensibles (+++) respecto a la escala sensibilidad de Duraffour. Por otro lado, el aceite al 100% con 17 mm resultado sensible (++) del diámetro de inhibición frente al desarrollo del *Enterobacter spp.*, fue más efectivo en comparación con los 12 mm de diámetro de inhibición

**Figura 1.** Medias de los diámetros de inhibición de las bacterias Gram positivas.

Fuente: Elaboración propia. Nota. Ext: Extracto, Ae: Aceite esencial, CIP: Ciprofloxacina, DOX: Doxiciclina, AMX: Amoxicilina, Ad: agua destilada.

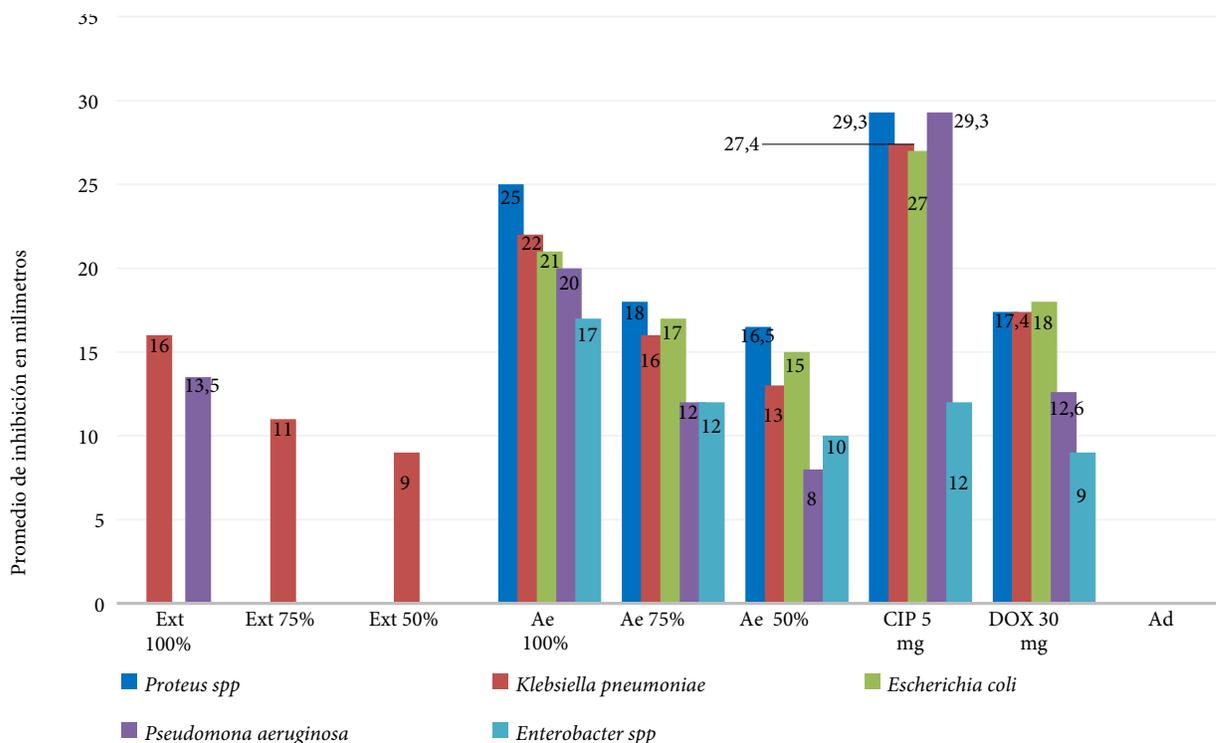


Figura 2. Medias de los diámetros de inhibición de bacterias Gram negativas.

Fuente: Elaboración propia.

Nota. Ext: Extracto, Ae: Aceite esencial, CIP: Ciprofloxacina, DOX: Doxiciclina, Ad: agua destilada.

de la ciprofloxacina y los 9 mm de la doxiciclina (Figura 2).

La prueba Shapiro-Wilk de los diámetros de inhibición del extracto, el aceite esencial, los controles positivos y el control negativo frente al crecimiento de la *E. coli*, el *E. faecalis*, la *P. aeruginosa*, el *Enterobacter spp.*, el *Proteus spp.*, y el *S. aureus* reportaron valores de $p < 0,05$ por lo que la variable de interés no cuenta con distribución normal. Empero, los diámetros de inhibición siguen una distribución normal para la *K. pneumoniae*, ya que su p valor fue mayor a 0,05.

Según, el p valor del ANOVA de un factor de Tukey el cual fue ($p = 5,8757E-13$) de los diámetros de inhibición frente al crecimiento de la *K. pneumoniae* (Tabla 2); y los valores de p de Kruskal-Wallis de los diámetros de inhibición contra al crecimiento de la *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, *Proteus spp.*, y *S. aureus* los cuales fueron menores a 0,05 (Tabla 3); para muestras independiente se observó diferencia significativa en los diámetros de inhibición en al menos dos de los 10 grupos analizados según, el análisis del p valor del ANOVA de un factor de Tukey el cual fue ($p = 5,8757E-13$) (Tabla 2). Por ello, la hipótesis nula fue rechazada y la hipótesis alternativa aceptada; argumentando que si existe diferencia significativa entre las medias de los diámetros de inhibición.

Tabla 2. ANOVA de Tukey del diámetro de inhibición contra la *Klebsiella pneumoniae*

	ANOVA de Tukey			F	Significancia
	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio cuadrático		
Entre grupos	1 493,241	9	165,916	66,83	5,8757E-13
Dentro de grupos	49,653	20	2,483		
Total	1 542,895	29			

Asumiendo
Ho: No existe diferencia de medias en los diámetros de inhibición ($P > 0,05$)
H1: existe diferencia de medias en los diámetros de inhibición ($P < 0,05$)

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 25, según la base de datos.

Tabla 3. ANOVA de Kruskal-Wallis del promedio de los diámetros de inhibición del *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *Proteus spp.*, *Enterobacter spp.*, y *P. aeruginosa*

	ANOVA de Kruskal-Wallis		
	H Kruskal-Wallis	Grados de libertad	Significancia asintótica
<i>S. aureus</i>	28,533	9	0,000776
<i>E. faecalis</i>	28,407	9	0,000815
<i>E. coli</i>	27,755	9	0,001048
<i>Proteus spp</i>	27,790	9	0,001034
<i>Enterobacter spp</i>	27,917	9	0,000985
<i>P. aeruginosa</i>	27,639	9	0,001096

Asumiendo Ho: No existe diferencia de medias en los diámetros de inhibición (P>0,05)

HI: existe diferencia de medias en los diámetros de inhibición (P<0,05)

Fuente: Programa estadístico SPSS versión 25, según la base de datos.

Discusión

El color, olor, sabor, aspecto, densidad e índice de refracción del aceite reportados por Olivera¹⁵, y Torrenegra¹⁶ fueron semejantes a los obtenidos: por otro lado, Gonzales¹⁷ y Sánchez et al¹⁸, reportaron densidades de 0,886 g/ml y 1,032 g/ml respectivamente, resultados contrarios al estudio la cual fue 0,9075 g/ml.

El rendimiento porcentual del aceite esencial en los trabajos de Olivera¹⁵, Laura¹¹, Ambuludi¹⁹ y Torrenegra¹⁶, osciló entre 0,25% a 0,93%; rendimiento distinto a los obtenidos, pero equivalente al porcentaje descrito por Peña¹ que fue mayor al 1,0%.

En el estudio realizado por Paucar⁶, la doxiciclina y el aceite esencial de muña mostraron una actividad antibacteriana comparable contra *Staphylococcus aureus*, con resultados comparables a los obtenidos al no demostrar una diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, es importante señalar que los halos de inhibición de nuestro estudio fueron mayores.

Según la investigación de Peña y Gutiérrez¹, no hubo diferencias apreciables entre la actividad antibacteriana de la amoxicilina y el aceite esencial en su concentración más alta frente a *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella pneumoniae*, arrojando resultados comparables a los obtenidos.

En el estudio de Castaeda et al²⁰, la actividad antibacteriana del aceite esencial al 100% y al 50% frente a *Enterococcus faecalis* fue menor; resultado opuesto al obtenido y comparable con el de Borda²¹, que informó para el aceite esencial una mayor actividad antibacteriana.

La ciprofloxacina control positivo utilizado en el estudio de Olivera¹⁵ contra el crecimiento de la *Escherichia coli* fue más efectiva que el aceite esencial frente a la *Pseudomonas aeruginosa*; resultados opuestos a los obtenidos, donde la actividad antibacteriana frente a estas bacterias tanto para la ciprofloxacina como para el aceite esencial no mostraron una diferencia significativa.

Conclusiones

En comparación con el extracto, el aceite esencial mostró una mayor actividad antibacteriana.

El aceite esencial presentó promedio de diámetros de inhibición superiores a los de la doxiciclina y la amoxicilina frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus spp*. Sin embargo, no superaron los diámetros de inhibición de la ciprofloxacina.

En comparación con la ciprofloxacina, la doxiciclina y la amoxicilina, el aceite esencial al 100% fue más eficaz para impedir el crecimiento del *Enterococcus faecalis* y el *Enterobacter spp*.

Agradecimientos

Agradecemos a la Dra. Zulema Bustamante, Decana de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, por permitirnos llevar a cabo este trabajo.

Conflicto de intereses: se declara no tener ningún conflicto de interes.

Referencias bibliográficas

- Peña, D., & Gutiérrez, M. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* sobre microorganismos frecuentes en vías respiratorias bajas. *Revista Ciencia y Tecnología*. 2 018 junio; 13(3).
- Giono S., Santos I., Rayo D., Torres J., & Alcántar D.. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla.. *Gaceta médica de México*. 2 020 noviembre; 156(2).
- Olivera I., & Gutierrez G. Evaluación de la actividad antimicrobiana "In vitro" sobre cuatro cepas ATCC y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Qeshua muña). Repositorio Institucional; Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; Peru. 2 021.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, G., & Lightfoot, A. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts.. *Plants*. 2 017 septiembre; 2(6).
- Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2 014-2 023. [Online]; 2 013 [cited 2023 agosto 8. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf.
- Paucar E., Peltroche N., & Cayo C. F. Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral.. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2 021 febrero; 40(5).
- Choque N., Seña, B., Medinacelli B., Fernández R., Cárdenas N., Sanchez P., & Guzmán M. Conocimiento tradicional de las vendedoras de plantas medicinales de la ciudad de Sucre-Bolivia.. *Bio sci*. 2 019 octubre; 2(4).
- Armas R., Quiroz R., Roman A., Sanchez O., Pacheco P., Valdivia H., Rivera C., Asmat C., & Guzmán A. Antibacterial Activities of Essential Oils from Three Medicinal Plants in Combination with EDTA against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Research Journal International*. 2 016 octubre; 17(4).
- Campo M, Ambuludí D, Cepeda N, Márquez I, San Martín D, Cuesta O.. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* Griseb contra el *Staphylococcus aureus*. *Rev Cuba Farm*. 2 017; 51(4).
- Huari G. E. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (MUÑA) EN *Streptococcus mutans*. Repositorio de tesis digitales, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología. Lima Peru. 2 014.
- Laura Ticona, J. Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales de eucalipto (*Eucalyptus globulus labill*); muña (*Minthostachys mollis*) frente a *Staphylococcus aureus* y Coliformes fecales. Repositorio de tesis, Universidad Peruana Union; Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos; Juliaca-Peru. 2 019.
- The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Normas de rendimiento para las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos, 33ª edición. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA. 2 023 Marzo; 33(1).
- Sánchez, E., Castillo S.L., & García P. Investigación en plantas de importancia médica Rivas C. OMA,VMJ, editor. Barcelona, España: Omnia Publisher SL; 2 016.
- Morillo J. A., & Balseca M. C. Eficacia inhibitoria del aceite esencial de *Cymbopogon Citratus* sobre cepas de *Porphyromona Gingivalis*: Estudio in vitro. Facultad de Odontología; Universidad Central del Ecuador. 2 018 diciembre; 20(2).
- Torrenegra M., Granados C., Durán M., León G., Yáñez, X., Martínez, C., & Pájaro N. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*.. Orinoquia, Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia. 2 016; 20(1).
- Gonzales, K., Salazar, M. E., & Fuertes, C. M. Actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Minthostachys mollis* Griseb." Muña" y *Piper carpunya* Ruiz & Pav." Pinku".. *Ciencia e Investigación*. 2 022; 24(2).
- Sánchez A., Cartagena R., & Collantes I. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Griseb) L. frente a *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*.. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2 020 octubre; 40(3).
- Ambuludí Farez, D. L, Cepeda Robles, N. C. Estudio fitoquímico preliminar del follaje de *minthostachys mollis* cultivada en Quito.. Repositorio Digital UTMACH, Unidad Académica de Ciencias Química y de la Salud, Machala, Ecuador. 2 015.
- Castañeda, W. A., & Prado, C. J. Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Rev. Simiykita*. 2 015 enero-junio; 1(1).
- Borda D. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Muña) comparado con el aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* (Romero) en concentración 50 y 100% sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, Arequipa. DSpace Principal; Universidad Alas Peruanas; Arequipa-Peru. 2 018 Abril.