



Artículo Original

Efecto del aceite esencial de los frutos y semillas de *Pimpinella anisum* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*

Effect of essential oil of fruits and seeds of *Pimpinella anisum* on the
growth of *Staphylococcus aureus*

Olenka Leytón¹, Jaquelin Saavedra¹, Katerin Segura¹, Leticia Solorzano¹ y
Orlando Pretell²

¹Escuela A.P de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo (UNT), Trujillo-Perú.

²Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal. UNT

RESUMEN

Se evaluó el efecto antibacteriano del aceite esencial de los frutos y semillas de *Pimpinella anisum* sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Para la obtención del aceite esencial se utilizó el método de destilación por arrastre con vapor de agua y para la evaluación del efecto sobre el crecimiento de la bacteria se utilizó el método de dilución en caldo: 0.05 mL, 0.08 mL, 0.2 mL, 0.5 mL y 0.8 mL del aceite esencial de ambas estructuras vegetales. Se encontró que el aceite esencial, tanto del fruto como de la semilla, en los volúmenes de 0.5 mL y 0.8 mL inhibió el crecimiento de *S. aureus*.

Palabras clave: aceite esencial, antibacteriano, método de dilución en caldo, destilación por arrastre de vapor de agua, *Pimpinella anisum*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

The antibacterial effect of essential oil of fruit and seeds of *Pimpinella anisum* on growth of *Staphylococcus aureus* was evaluated. To obtain the essential oil was used the method of distillation carryover with steam and for the evaluation of the effect on the growth of the bacterium was used the method of dilution in broth: 0.05 mL, 0.08 mL, 0.2 mL, 0.5 mL and 0.8 mL of essential oil of both structures vegetables. It was found that the essential oil, both the fruit and the seed, in the volumes of 0.5 mL and 0.8 mL inhibited the growth of *S. aureus*.

Key words: antibacterial, essential oil, method for broth dilution, distillation by entrainment of water vapour, *Pimpinella anisum*, *Staphylococcus aureus*

INTRODUCCIÓN

La naturaleza ha sido fuente de agentes medicinales por cientos de años y un impresionante número de drogas modernas han sido aisladas de estas fuentes¹. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) más del 80% de la población hace uso de la medicina tradicional para atender a sus necesidades primarias de salud^{2,3}. Entre tanto, la resistencia de los microbios patógenos a las drogas y los efectos colaterales de las medicinas sintéticas ha conducido a focalizarse en remedios naturales y la fuente de éstos, algunas especies vegetales, han sido registradas como antibacterianos; sin embargo pocas han sido sujetas de rigurosa validación^{1,3}.

Sanícula, *Eryngium*, *Pimpinella*, *Oreomyrrhis*, *Daucus*, *Conium*, *Totilis*, *Azorrella*, *Lilaeopsis*, *Foeniculum* y *Pastinaca* son géneros de la familia Apiaceae que presentan interés médico debido a que

cotienen en su estructura terpenos, sesquiterpenos y fenilpropanos, a los que se les atribuyen propiedades antibacterianas, antivirales, antitumorales, antiinflamatorias y antioxidantes^{3,4}.

Dentro de la familia Apiaceae, *Cuminum cyminum*, *Coriandrum sativum*, *Foeniculum vulgare*, *Pimpinella anisum* y *Petroselinum crispum* han sido sometidas a investigaciones que han permitido determinar que sus aceites esenciales y extractos presentan actividad antibacteriana contra *Klebsiella pneumoniae*³, *Campylobacter jejuni*⁴, *Mycobacterium tuberculosis*⁵, *Xanthomonas campestris*⁶ y *Pseudomonas aeruginosa*⁷.

P. anisum es una hierba anual originaria del Cercano Oriente, ampliamente cultivada en la cuenca del Mediterráneo, se ha utilizado como una hierba aromática y especias desde tiempos egipcios y antigüedad además ha sido cultivada en toda Europa^{9,10}. El aceite esencial de los frutos contiene de 80 a 95% de trans-anetol como el principal compuesto, seguido de éter metil chavicol (estragol), anisaldehído y cis-anetol¹¹, estos componentes en estudios anteriores se ha determinado que tienen efecto antibacteriano.

La adquisición de enfermedades por el consumo de los alimentos contaminados con microorganismos como *Staphylococcus aureus* ha hecho que actualmente se utilicen muchas técnicas para el control e inhibición de microorganismos con el fin de preservar los alimentos. Se conocen pocas investigaciones en las que se utiliza a *P. anisum* como antibacteriano, por ello, en la presente investigación se busca conocer si esta especie tiene algún efecto in vitro sobre el crecimiento de *S. aureus*, utilizando el aceite esencial de los frutos y semillas a los volúmenes de: 0.05 mL, 0.08 mL, 0.2 mL, 0.5 mL y 0.8 mL; se plantea que a mayor volumen del aceite esencial de los frutos y semillas de *P. anisum*, habrá mayor inhibición del crecimiento de *S. aureus* in vitro. Entonces, podría utilizarse para reemplazar aditivos o conservantes alimentarios sintéticos logrando productos inocuos con un menor impacto sobre el medio ambiente y en la salud.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material biológico:

- Frutos y semillas frescas e íntegras de *P. anisum* procedentes de la ciudad de Huaraz (Perú) e identificadas en el Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo (Perú)
- Aceite esencial de frutos y semillas de *P. anisum* obtenidos mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua^{11,12}.
- Cultivo puro a partir de la cepa de *S. aureus* ATCC-25923 coagulasa positivo donada por el Hospital Regional Docente de Trujillo (Perú).

Preparación y estandarización del inóculo bacteriano^{12,13,14}

El inóculo bacteriano se llevó a una concentración igual a la del estándar 0,5 de McFarland, que equivale a 1.5x10⁸ células/ml, la suspensión se preparó de acuerdo al tiempo de su fase logarítmica.

Evaluación del efecto del aceite esencial^{12,14}

Para evaluar la actividad antimicrobiana se empleó el método de dilución en caldo⁽¹²⁾. Se utilizó 7 tubos con caldo nutritivo, tres tubos para el control: un tubo sólo con caldo nutritivo más el inóculo bacteriano y el otro tubo con caldo nutritivo y dimetilsulfoxido⁽¹³⁾ (DMSO) más en inóculo bacteriano; los otros tubos contienen volúmenes de 0.05 mL, 0.08 mL, 0.2 mL, 0.5 mL y 0.8 mL del aceite esencial de los frutos y semillas de *P. anisum*, los cuales serán añadidos con una pipeta, dichos volúmenes serán enfrentados al inóculo de *S. aureus* estandarizado al igual que los tubos control. Se trabajó por duplicado. Se incubó a 37°C por 24 horas los 8 tubos; pasado este tiempo, de cada tubo se extrajo 0.1 mL y se hizo una siembra por superficie en una placa con agar nutritivo y se procedió al recuento de UFC/mL.

RESULTADOS

Al enfrentarse el aceite esencial de *P. anisum* con *S. aureus* se obtuvo que con los volúmenes de 0.5 mL y 0.8 mL no presentaron crecimiento de *S. aureus* mientras que a los volúmenes 0.05 mL, 0.08 mL y 0.2 mL hubo crecimiento inversamente proporcional con el volumen del aceite. (Tabla 1)

Tabla 1. Recuento de UFC de *Staphylococcus aureus* al enfrentarlo a diferentes volúmenes del aceite esencial de los frutos y semillas de *Pimpinella anisum*

ENSAYO	UFC/ml
Control positivo	45x10 ⁶
0.05 mL	24x10 ⁵
0.08 mL	15x10 ⁵
0.2 mL	4x10 ⁵
0.5 mL	0
0.8 mL	0

Existe diferencia significativa ($p \leq 0.05$)

DISCUSIÓN

La familia Apiaceae se caracteriza por tener propiedades antimicrobianas^{3,14,17}. La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, se basa en el deterioro de varios sistemas enzimáticos. Los resultados de la evaluación del efecto antibacteriano del aceite esencial de *P. anisum* frente a *S. aureus* (Tabla 1) presenta una relación directamente proporcional, es decir, que a mayor volumen de aceite, mayor es la inhibición del crecimiento. Esto se debe a que dentro de los principales componentes del aceite esencial se encuentra el trans-anetol^{15,18,19,20}, que en estudios anteriores presentó actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis*⁽¹⁶⁾; el éter metil chavicol (estragol), el cual es un compuesto que ataca a la membrana citoplasmática del microorganismo destruyendo la capacidad selectiva y permitiendo el escape de componentes intracelulares^{17,20}; y otros componentes en menor cantidad como el anisaldehído y el cis- anetol, entre otros^{18,19,20}.

El estudio realizado muestra que la actividad antimicrobiana se debe a la acción combinada de los compuestos químicos sobre distintos orgánulos de las células, esto es debido a la variedad de dichos compuestos presentes en el aceite esencial de la planta estudiada

AGRADECIMIENTOS

Al MgC Orlando Pretel Sevillano, del laboratorio de Termorregulación y Endocrinología, por el análisis y revisión crítica de la primera y segunda versión del manuscrito y aprobación de su versión final; a la profesora Patricia Torres Plasencia por su apoyo en la parte experimental de la investigación y al MgC Juan Wilson Krugg por su apoyo en la obtención del cultivo puro de *Staphylococcus aureus*.

Conflictos de interés: los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación de este artículo.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. Yasmin H, Kaisar A, Sarker MR, Rahman MS, Rashid MA. Preliminary anti-bacterial activity of some indigenous plants of Bangladesh. Dhaka Univ J Pharm Sci. 2009; 8(1): 61-65
2. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils-A review. Food & Chem Toxicol 2008; 46:446-475
3. Fabri RL, Nogueira MS, Dutra LB, Bouzada MLM, Scio E. Potencial antioxidante e antimicrobiano de especies da familia Asteracea. Rev Bras Ol Med Botucaten 2011; 13(2): 183-189
4. Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Taxonomía de las Fanerogamas útiles Del Perú. Perú. Editorial Normas Legales S.A.C. 2002

5. Jaramillo B, Duarte E, Martelo I. Composición Química Volatil del Aceite esencial de *Eryngium foetidum* L. Colombiano y Determinación de su Actividad antioxidante. Rev Cubana Plant Med. 2011; 16(2): 140-150
6. Derakhshan S, Sattari M, Bigdeli M. Effect of Cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid Integrity of *Klebsiella pneumoniae*. Rev. Pharmacogn Mag. 2010. 6 (21): 57-61
7. Khan D, Hassan F, Ullah H, Karim S, Baseer A et al. Antibacterial activity of Phyllanthus emblica, *Coriandrum sativum*, *Culinaris medic*, *Lawsonia alba* and *Cucumis sativus*. Acta Pol Pharm. 2013; 70(5):855-859.
8. Pino Oriela, Sánchez Yaíma, Rojas M. Miriam, Abreu Yudith, Correa M. Teresa. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Pimpinella anisum* L. Rev. Protección Veg. 2012. 27 (3): 181-187
9. Esquivel P, Favela J, Garza E, Waksman N, Ríos M, Camacho M. Antimycobacterial Activity of Constituents from *Foeniculum vulgare* var. Dulce Grown in Mexico. Molecules. 2012; 17(7): 8471-8482.
10. Petrolini FV, Lucarini R, de Souza MG, Pires RH, Cunha WR and col. Evaluación del potencial antibacteriana de *Petroselinum crispum* y *Rosmarinus officinalis* contra las bacterias que causan infecciones de las vías urinarias. Braz JMicrobiol.2013; 44(3):829-834.doi: 10.1590/S15173822013005000061.
11. Armijo J, Vicuña E, Romero y Otiniano P, Condorhuamàn, Hilario B. Modelamiento y Simulación del Proceso de Extracción de Aceites Esenciales mediante la Destilación por Arrastre con Vapor. Rev. Per. Quím. Ing. Quím.2012; 15 (2) :19-27
12. Noorizadeh H, Farmany A, Noorizadeh M. Application of GA-PLS and GA-KPLS calculations for the prediction of the retention indices of essential oils. Quim Nova. 2011; 34(8):1398-1404.
13. Kosalec I, Pepeljnjak S and Kustrak D. Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). Acta Pharm. 55(2005) 377-385.
14. Ramírez S, Castaño D. Metodologías para Evaluar la Actividad Antibacteriana de Compuestos de Origen Vegetal. Scientia et Technica. 2009; 42: 263 – 268.
15. Bahram M, Ghajar and Shirley A. Harmon. The Effect of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) on Permeability of *Staphylococcus aureus*. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1968; 32 (6): 940-944
16. Pavela R, Sajfrtová M, Sovová H, Bárnet M. The insecticidal activity of *Satureja hortensis* L. extracts obtained by supercritical fluid extraction and traditional extraction techniques. Appl Entomol Zool. 2008; 43(3):377-382.
17. Shojail A, Abdoll M. Review of Pharmacological Properties and Chemical Constituents of *Pimpinella anisum*. ISRN Pharmaceutics.2012. doi:10.5402/2012/510795
18. Mukhopadhyay R, Miró M, Anerjee AB. Actividad antimicrobiana de *Illicium verum* Hook. f. Ars Pharmaceutica.2001. 42:3-4; 209-220.
19. Nychas, GJE. Natural antimicrobials from plants. En new methods of food preservation. Gould G W. (Ed). Chapman y Hall.London.UK.Chap.4:59-89
20. Alkuraishy HM. Evaluation the Antibacterial Activity Of Aniseed: In Vitro Study. WebmedCentral: Journal of Clinical research and healthcare management 2012; 3(6).

Correspondencia: Orlando Pretel Sevillano. Email: opretej@unitru.edu.pe
