

COMUNICACIÓN CORTA

Caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *genovese* L.

Miriam M. Rojas^I, Yaíma Sánchez^I, Yudith Abreu^I, Ivette Espinosa^I, Teresa M. Correa^{II}, Oriela Pino^I

^ICentro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) Apartado 10, San José de las Lajas, La Habana. Cuba.
Correo electrónico: mrojas@censa.edu.cu.

^{II}Laboratorio Anti-Doping, Instituto de Medicina Deportiva (IMD). 100 y Aldabó, Boyeros, La Habana, Cuba

RESUMEN: La resistencia de los microorganismos a los fármacos y plaguicidas existentes tiende a incrementarse, razón por la cual se mantiene el ímpetu en la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos de origen natural y dentro de ellos se destacan los aceites esenciales. El objetivo de este trabajo fue identificar las potencialidades de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *genovese* L. como candidatos para el desarrollo de nuevos antibacterianos. Los aceites esenciales se extrajeron por hidrodestilación empleando un equipo Clevenger. Se determinó su composición química por CG/EM y se realizó la evaluación biológica frente a *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* (Smith) Davis *et al*, *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, *Streptococcus suis* (Elliot,) Kilpper-Bälz & Schleifer y *Klebsiella pneumoniae* (Schroeter) Trevisan, por el método de difusión en agar. Las composiciones químicas de ambos aceites poseen similitudes, estos se caracterizan por la prevalencia de compuestos monoterpenoides oxigenados, siendo los componentes mayoritarios el linalol, eugenol y eucaliptol. Los aceites de albahaca blanca y genovesa evidenciaron una actividad antibacteriana marcada frente a todas las bacterias evaluadas. Las bacterias fitopatógenas fueron más susceptibles a la acción de ambos aceites que las bacterias patógenas de animales. Los resultados obtenidos señalan a estos aceites como ingredientes activos promisorios para el desarrollo de nuevos productos destinados al control y tratamiento de enfermedades en las esferas de la sanidad vegetal y animal.

Palabras clave: aceites esenciales, *Ocimum*, *Clavibacter*, *Xanthomonas*, *Streptococcus*, *Klebsiella*.

Chemical characterization and antibacterial activity of essential oils of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum basilicum* var. *genovese* L.

ABSTRACT: Resistance of microorganisms to commercial drugs and plaguicides tend to increase; thus, the search for new antimicrobial agents of natural sources including essential oils, is very important. The aim of this study was to identify the potential of essential oils of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum basilicum* var. *genovese* L. as candidates for the development of new antibacterials. Essential oils were extracted by hydrodistillation using a Clevenger team. Their chemical composition was determined by GC / MS, and the biological evaluation against *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis* (Smith) Davis *et al*, *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, *Streptococcus suis* (Elliot,) Kilpper-Bälz & Schleifer and *Klebsiella pneumoniae* (Schroeter) Trevisan was carried out by agar diffusion method. The chemical compositions of both oils have similarities; they are characterized by the prevalence of oxygenated monoterpenoid compounds, being the main constituents linalool, eugenol and eucalyptol. White basil and genovese oils showed a strong antibacterial activity against all bacteria tested. Phytopathogenic bacteria were more susceptible to the action of both oils than the pathogenic bacteria of animals. The results obtained indicate these oils as active ingredients for developing promising new products for the control and treatment of diseases in the fields of plant and animal health.

Key words: essential oils, *Ocimum*, *Clavibacter*, *Xanthomonas*, *Streptococcus*, *Klebsiella*.

La resistencia de los microorganismos a los fármacos y plaguicidas existentes tiende a incrementarse, razón por la cual se mantiene el ímpetu en la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos para combatir las plagas y enfermedades, superar los problemas de resistencia bacteriana y los efectos secundarios de algunos agentes disponibles (1,2). Es por ello que el uso de antimicrobianos de origen natural es una alternativa que está en vía de explotación y dentro de ellos los aceites esenciales tienen grandes potencialidades.

Las especies del género *Ocimum* son plantas aromáticas reconocidas como productoras de aceites esenciales (1,2). Las variaciones en la actividad antimicrobiana, al igual que otros tipos de actividad biológica, pueden ser correlacionadas con las diferencias en la composición química. Existen varios quimiotipos o cultivares de albahaca que difieren por la composición química de los aceites esenciales obtenidos (3). En dependencia de estas características pueden definirse diferentes aplicaciones para estos aceites, en la industria alimentaria, de los cosméticos, en la medicina y en la agricultura (4).

Sin embargo, los trabajos existentes no abarcan aún el estudio comparativo de especies relacionadas taxonómicamente y la evaluación de un amplio espectro de dianas biológicas de importancia en la esfera animal y vegetal, se demanda la realización de un mayor número de investigaciones encaminadas a incrementar el conocimiento sobre la relación composición química-actividad biológica que contribuyan a lograr una aplicación práctica exitosa (5, 6).

El objetivo de este trabajo fue identificar las potencialidades de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. (albahaca blanca) y *Ocimum basilicum* var. *genovese* L. (albahaca genovesa) como candidatos para el desarrollo de nuevos antibacterianos.

Las hojas y tallos de *O. basilicum* y *O. basilicum* var. *genovese*, cultivadas en la UBPC Vivero Organopónico Alamar, en la Habana, se recolectaron en el 2010. Los aceites esenciales se extrajeron del material vegetal fresco y no dañado por hidrodestilación con equipo Clevenger durante tres horas, según lo establecido en la norma ISO 65-71:84 (7). Cada aceite se secó sobre sulfato de sodio y se almacenó a 8°C.

La actividad antimicrobiana de los aceites se evaluó frente a *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al*, *Xanthomonas albilineans* (Ashby) Dowson, *Streptococcus suis* (Elliot,) Kilpper-Bälz & Schleifer y *Klebsiella pneumoniae* (Schroeter) Trevisan. Las bacterias fitopatógenas provenían del cepario del Laboratorio de

Bacteriología Vegetal y las dos últimas se obtuvieron del Laboratorio de Bacteriología Animal, ambos del Centro Nacional Sanidad Agropecuaria.

Las bacterias se sembraron por agotamiento; las dos primeras se incubaron a 28°C durante 48 horas y las otras dos a 37°C por 24 horas. Una vez crecidas, se preparó una suspensión bacteriana, a una concentración de inóculo de aproximadamente 1×10^9 UFC mL⁻¹. De este inóculo se tomaron 20 µL y se sembraron en placas con el medio correspondiente por disseminación con espátula de Drigalski.

Para evaluar la sensibilidad de estos microorganismos a los aceites esenciales se empleó el método de difusión en agar según la técnica estandarizada por el Comité Nacional para Estándares de Laboratorios Clínicos (National Committee for Clinical Laboratory Standards, (NCCLS) (8), basada en el método de Kirby-Bauer. En cada placa se colocaron cuatro discos de papel de filtro de 6 mm de diámetro, a dos de los discos se les añadió el aceite esencial (10 µL a cada disco) y los otros dos discos se emplearon como controles negativos. Como control positivo se utilizaron discos impregnados con Kanamicina (10 µg disco⁻¹) (MINSAP) para las bacterias fitopatógenas, Ciprofloxacina (10 µg disco⁻¹) (OXOID) para *S. suis* y Eritromicina (10 µg disco⁻¹) (OXOID) para *K. pneumoniae*. Para cada tratamiento se utilizaron dos placas. La temperatura y el tiempo de incubación empleados fueron iguales a las descritas anteriormente. Una vez transcurrido el tiempo correspondiente se midió el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano. La actividad de los aceites se clasificó según los rangos de la escala utilizada por Sánchez *et al.* (9).

La composición química de los aceites se determinó en un cromatógrafo de gases de la serie Agilent 6890 con un inyector del tipo «split splitless» (relación de split 20:1), acoplado con un espectrómetro de masas de la serie Agilent 05973; ambos provenientes de la firma Agilent Technologies. Se utilizó una columna capilar SPB-5 (L=15m, DI=0.25mm, f=0.10mm) con una inyección de 2 mL. Se usó Helio como gas portador y la identificación de los compuestos se llevó a cabo mediante el uso combinado de las bases de datos automatizadas NBS-NISTASCI y Wiley 275 y el Atlas Registry of Mass Spectra Data.

Los componentes de los aceites esenciales de albahaca blanca y albahaca genovesa y sus cantidades relativas se informan en la Tabla 1.

En el aceite de albahaca blanca se identificaron 38 compuestos. En la composición del aceite predominaron los compuestos oxigenados (77,79 %), entre ellos

TABLA 1. Composición química de los aceites esenciales de *O. basilicum* y *O. basilicum* var *genovese*./ *Chemical composition of O. basilicum and O. basilicum* var *genovese* essential oils

Componente	Abundancia relativa (%)*	
	Albahaca blanca	Albahaca genovesa
β-pineno	0,16	
1-octen-3-ol	0,45	0,35
mircenol	0,83	0,20
α-terpineno	0,11	
1,8-cineol (eucaliptol)	7,68	5,26
trans-β-ocimeno	0,81	0,55
γ-terpineno	0,26	
α-terpinoleno	0,87	0,15
linalol	37,17	37,39
alcanfor	0,91	0,36
isoborneol	0,16	
l-borneol	0,44	0,34
δ-terpineol	0,29	0,20
4-terpineol	0,68	0,48
α-terpineol	1,73	1,59
piperitona	0,38	0,29
geraniol	0,13	0,28
safrol	9,46	2,24
bicicloelemeno	0,25	
eugenol	16,06	21,61
β-elemeno	2,33	2,15
metil eugenol	0,78	0,14
trans-cariofileno		0,35
d-germacreno	0,26	0,10
δ-gurjuneno	3,57	
(+)-aromadendreno		3,99
α-elemeno		0,30
α-humuleno	0,66	
epi-biciclosesquifelandreno		0,66
trans-β-farneseno	0,53	
β-cubebeno	3,60	2,28
cariofileno		0,33
biciclogermacreno	1,53	1,09
δ-guaieno	0,83	0,83
α-amorfenol	0,19	
γ-cadineno		2,12
β-sesquifelandreno	0,34	
β-cadineno		0,53
α-copaeno		0,03
nerolidol	0,49	0,28
(+) spatulenol		0,12
globulol	0,10	0,11
viridiflorol	0,20	0,26
1,2,3,4,4a,7-hexahidro-1,6-dimetil-4-(1-metiletil)naftaleno	0,12	1,01
Epi-biciclosesquifelandreno	0,46	
δ-selineno		6,64
β-eudesmol	0,53	0,17
α-cadinol	0,31	0,49
santalol		0,13
(-)-Animol		0,24
Fitol		1,17

Se presenta la identificación de los compuestos presentes en el aceite con una abundancia relativa mayor que 0,1%.

se incluyen el componente mayoritario linalol (37,17 %), seguido por el eugenol (16,06 %), safrol (9,46 %) y 1,8-cineol (7,68 %) (Figura 1).

En la esencia de albahaca genovesa se identificaron 40 componentes; de ellos, 3 son hidrocarburos monoterpénicos (0,9%), 11 terpenos oxigenados (70,04%) y 22 hidrocarburos sesquiterpénicos (24,21%) los que representan la mayor proporción desde el punto de vista cuantitativo en el aceite esencial. Los componentes mayoritarios fueron los monoterpenos oxigenados linalol (37,39%) eugenol (21,61%) y el 1,8-cineol, (5,26 %). (Figura 1).

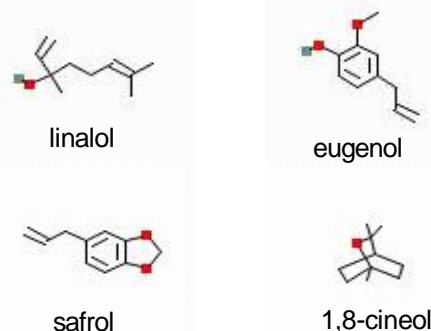


FIGURA 1. Componentes principales de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* y *Ocimum basilicum* var *genovese*./ *Main components of Ocimum basilicum and Ocimum basilicum* var *genovese* essential oils.

Ambos aceites tiene similitudes dadas por la presencia común de 27 compuestos, que para la esencia de albahaca genovesa representan el 67,5% de su composición y para la albahaca blanca el 71,05%; además linalol, eugenol y eucaliptol son los componentes más abundantes en las dos mezclas.

Los aceites de albahaca se caracterizan por el predominio general de monoterpenos oxigenados y derivados fenilpropanoides. Por otro lado, las diferencias en su composición condujeron a la descripción de quimiotipos de diversos orígenes geográficos: el quimiotipo Europeo, presentando el linalol y estragol como componentes principales; el quimiotipo Reunión, se caracteriza por altas concentraciones de estragol; el quimiotipo tropical, es rico en cinamato de metilo; y un quimiotipo de África del norte y de la antigua Unión Soviética es rico en eugenol (10).

El linalol es uno de los componentes más comunes en los aceites de *Ocimum* spp.(11) y su porcentaje varía desde trazas hasta casi un 90%. En los aceites evaluados en el presente estudio este monoterpeno oxigenado se detectó con una abundancia relativa

TABLA 2. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *O. basilicum* y *O. basilicum* var *genovese*./ *Antibacterial activity of O. basilicum and O. basilicum* var *genovese* essential oils

Bacteria	Halo de inhibición (mm) (clasificación actividad)		
	<i>O. basilicum</i>	<i>O. basilicum</i> var <i>genovese</i>	Control positivo
<i>C.michiganensis</i> subsp <i>michiganensis</i>	90 (inhibición total)	90 (inhibición total)	20 (marcada)
<i>X. albilineans</i>	90 (inhibición total)	90 (inhibición total)	23 (marcada)
<i>S. suis</i>	30,25 (marcada)	32,25 (marcada)	20 (marcada)
<i>K. pneumoniae</i>	18,33 (marcada)	19,5 (marcada)	8 (ligera)

superior al 20%, por lo cual estos aceites corresponderían al quimiotipo rico en linalol (12,13). El linalol puede coexistir con eugenol, safrol, 1,8-cineol y otros monoterpenos que se encuentran en la composición de los aceites estudiados.

Los resultados de la evaluación de la actividad antibacteriana se presentan en la Tabla 2, todos los aceites evaluados mostraron actividad antibacteriana.

Los aceites de albahaca blanca y genovesa evidenciaron una actividad antibacteriana similar. Las bacterias fitopatógenas fueron más susceptibles a la acción de ambos aceites que las bacterias patógenas de animales. Considerando esas diferencias en la sensibilidad de los microorganismos estudiados, estas esencias podrían tener un desarrollo más exitoso como ingredientes activos de plaguicidas en la esfera de la sanidad vegetal.

Ocimum spp. son plantas bien conocidas por producir aceites esenciales con actividad antimicrobiana (14). Extractos de *O. basilicum* mostraron actividad frente a las bacterias *Pseudomonas aeruginosa* (*Schroeter*) *Migula*, *Shigella* sp. (*Catellani* & *Chalmers*), *Listeria monocytogenes* (*Murray et al.*) *Pirie*, *Staphylococcus aureus* (*Rosenbach*) y dos cepas diferentes de *Escherichia coli* (*Migula*) *Catellani* & *Chalmers* (1). Sin embargo, no se encontró en la literatura consultada información sobre la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de estas plantas frente a las bacterias estudiadas.

En numerosos estudios se plantea que la mayor contribución al efecto antimicrobiano de los aceites esenciales, la ejercen sus componentes oxigenados (15). En la composición de los aceites de albahaca prevalecen los compuestos oxigenados con una contribución de un 73,22 y 77,79% de abundancia relativa para la albahaca genovesa y blanca respectivamente. Frente a diferentes microorganismos se detectó la actividad de compuestos terpenoides tales como el linalol, eugenol, 1,8-cineol y safrol (15, 16, 17). Estos compuestos se identificaron como componentes de los aceites esenciales estudiados, por lo tanto la activi-

dad antibacteriana podría asociarse a su presencia en los aceites bioactivos.

Los resultados obtenidos señalan a estos aceites como ingredientes activos promisorios para el desarrollo de nuevos productos destinados al control y tratamiento de enfermedades en las esferas de la sanidad vegetal y animal, siendo necesario continuar los estudios con dichas esencias.

REFERENCIAS

1. Kaya I, Yigit N, Benli M. Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Ocimum basilicum* L. and Observation of the Inhibition Effect on Bacterial Cells by Use of Scanning Electron Microscopy. *Afr J Traditional and Alternative Medicine*. 2008; 5(4): 363-369.
2. Zwenger S, Basu Ch. Plant terpenoids: applications and future potentials. *Biotechnology and Molecular Biology Reviews*. 2008; 3(1): 1-7.
3. Valtcho DZ, Heljzkov Amber Callahan, Cantrell Charles L. Yield and Oil Composition of 38 Basil (*Ocimum basilicum* L.) Accessions Grown in Mississippi. *J AgricFood Chem*. 2008; 56:241-245.
4. Dambolena JS, Zunino MP, Abel G, López H, Rubinstein R, Zygadlo JA, et al. Essential oils composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. from Kenya and their inhibitory effects on growth and fumonisin production by *Fusarium verticillioides*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2010; 11(2): 410-414.
5. Durán DC, Monsalve LA, Martínez JR, Stashenko EE. Estudio comparativo de la composición química de aceites esenciales de *Lippia alba* provenientes de diferentes regiones de Colombia y efecto del tiempo de destilación sobre la composición del aceite. *Scientia et Técnica*. 2007; 33:435-437.

6. Rali T, Wossa WS, Leach DN, Waterman PG. Volatile Chemical Constituents of *Piper aduncum* L and *Piper gibbilimum* C. DC (Piperaceae) from Papua New Guinea. *Molecules* 2007; 12: 389-94.
7. International Standardization Organization. ISO 6571. Spices, condiments and herbs- Determination of volatile oil content. 1984; (Norma ISO).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. 1997; 17: 234-238.
9. Sánchez Y, Pino O, Correa TM, Naranjo E, Iglesia A. Estudio químico y microbiológico del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (Caisimón de Anís). *Rev Protección Veg.* 2009; 24(1): 39-46.
10. Reyes JA, Patiño JG, Martínez JR, Stashenko EE. Caracterización de los metabolitos secundarios de dos especies de *Ocimum* (Fam. Labiatae), en función del método de extracción. *Scientia et Technica.* 2007; 33:121-123.
11. Colivet J, Marcano G, Belloso G, Brito D, Gómez E. Efecto antimicrobiano de extractos etanólicos de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) sobre el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. *Rev Venez Cienc Technol. Aliment.* 2011; 2(2):313-320.
12. Lawrence BM. A further examination of the variation of *Ocimum basilicum* L. In BM. Lawrence, BD. Mookherjee, and BJ. Willis, (eds.), *Flavors and Fragrances; A World Perspective.* Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, 1988 pp. 161-170.
13. Lawrence BM. Progress in essential oils. *Perfumer & Flavorist.* 1992;17: 45-56.
14. Ajayi IA, Jonathan SG, Adewuyi A, Oderinde RA. Antimicrobial Screening of the Essential Oil of Some Herbal Plants from Western Nigeria. *World Applied Sciences Journal.* 2008;3(1): 79-81.
15. Maguna FP, Romero AM, Garro OA, Okulik NB. Actividad Antimicrobiana de un grupo de Terpenoides. Facultad de Agroindustrias, UNNE, Argentina. 2006; (Comunicaciones Científicas y Tecnológicas en Internet). Consultado: 9 Oct 2008. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/>.
16. Nanasombat S, Lohasupthawee P. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against *Salmonellae* and other enterobacteria. *Sci Tech. J.* 2005; 5 (3): 527-538.
17. Bosniæ T, Softiæ D, Grujiæ-Vasiæ J. Antimicrobial Activity of Some Essential Oils and Major Constituents of Essential Oils. *Basic Science.* 2006; 35:19-22. (*Acta Médica Académica*).

Recibido 31-10-2011.
Aceptado 13-12-2011.