

**ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA
AGROPECUARIA DE MANABI
MANUEL FELIX LOPEZ**

**VICERRECTORADO ACADEMICO
VICERRECTORADO DE EXTENSION Y BIENESTAR
COORDINACION GENERAL DE POSGRADO**

**IV EVENTO INTERNACIONAL LA UNIVERSIDAD EN EL
SIGLO XXI**

TEMA:

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFUNGUICA DEL EXTRACTO
DE ACEITE DE OREGANO (*origanum vulgare*) EMULSIONADO Y
SU APLICACIÓN EN EL CENTRO NORTE DE MANABI ECUADOR**

CALCETA AGOSTO DEL 2015

RESUMEN.- Las plantas producen compuestos con propiedades antimicrobianas que pueden ser empleadas en el control de los mismos. Una de estas especies potenciales es el orégano (*origanum vulgare*), el cual crece de manera silvestre en la región centro norte de Manabí. Se evaluó la actividad antibacteriana y antifúngica del extracto emulsionado en medios inoculados con *Staphylococcus sp*, *E. Coli*, y Hongos (++)). Para el desarrollo de la investigación se obtuvo el extracto de aceite de orégano mediante destilación con arrastre de vapor, se purificó, y semicaracterizó. Se emulsiona con tween 80 y goma xantán. La técnica utilizada para el análisis de la actividad antibacteriana y antifúngica fue la de difusión en agar, utilizando discos de papel filtro estéril embebidos con el aceite de orégano, diluidos 1:1, 1:5, y 1:10 v/v en medios de cultivo específico, previamente inoculado con la cepa en estudio.

Palabra clave.- Origanum vulgares, emulsión del aceite esencial, medios inoculados, actividad antimicrobiana.

INTRODUCCION.- En uso indiscriminado de productos con propiedades antibacterianas y antifúngicas está causando deterioro en ciertas especies de ecosistemas en donde se aplican, la salud de quienes manipulan estos productos; así como también de quienes consumen sus productos de cosecha. .

El orégano (*Origanum vulgare*) posee propiedades antioxidantes, antifúngicas, antiespasmódicas, antisépticas, y sobre todo se caracteriza por la potente acción de sus principios activos carvacrol y timol que le otorgan a esta planta un gran poder antibacteriano. (Arcila C., Loarca G., Lecona S., González E.). 2004

Autores evaluaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de *O. vulgare*, el resultado de la investigación confirma que el aceite esencial del orégano posee efecto antimicrobiano frente a bacterias gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* y sobre bacterias gram negativas. La bacteria *Pseudomona auriginosa* no mostró sensibilidad frente al aceite esencial. (Albado Plaus Emilia; Saez Flores Gloria; Grabiél Ataucusi Sandra. 2001). Se reporta

efectividad del aceite de orégano como funguicida contra: *Candida albicans*, *Phymatotricopsis omnivora*, *Rhizopus spp*, *Fusarium oxisporum* y *Phytoppthora capsici* (Portillo et al; 2005; CONABIO, 2005; Valero et al; 2005).

Los aceites esenciales de orégano se constituirían en aditivos de origen natural, sin riesgos de crear resistencias bacterianas, ni efectos residuales, ya que el carvacrol y timol son degradados a metabolitos secundarios y así son excretados en la orina (90%), o expirados por los pulmones (10%) en forma de CO₂ (Ninkov, 2005).

En la región centro norte de la provincia de Manabí Ecuador no está bien difundido ni socializado las propiedades antifungicas y antibacterianas del aceite de orégano, y lo que podría resultar si se potencia esta acción mediante su emulsificación; por lo que se quiere evidenciar las diferentes concentraciones y métodos de elaboración sobre la actividad antibacteriana y antifungica del aceite emulsionado.

DESARROLLO Y METODOLOGIA

Tipo y diseño de investigación

Investigación de tipo experimental. Se aplicara diseño experimental con el método de ANOVA. Por factores.

ANALISIS DE LA VARIANZA ANOVA

Fuentes de varianza	Grados de libertad
Dosis (d)	(d-1) 3-1 = 2
Método (m)	(m-1) 2-1 = 1
Dosis x Método	(d-1) (m-1) 2x1 = 2
Halos de inhibicion	x – Diferencia = 24
Error experimental	
Total	d.m.r – 1 3x2x5-1 = 29

Modelo Estadístico $Y_{ijk} = u + d_i + m_j + dm_{ij} + e_{ijk}$

Combinaciones o			Factor	Factor	Repeticiones.				
Tratamientos	Código		B	C	1	2	3	4	5
1	D1M1		Dosis1	Método 1	0	0	0	0	0
2	D1M2			Método2	0	0	0	0	0
3	D2M1		Dosis2	Metodo1	0	0	0	0	0
4	D2M2			Método2	0	0	0	0	0
5	D3M1		Dosis3	Método1	0	0	0	0	0
6	D3M2			Método2	0	0	0	0	0

Unidad de análisis.

La unidad de análisis es el extracto de aceite de orégano (*organum vulgare*) emulsionado.

Población de estudio.

La población de estudio: Tipos de emulgentes, formulación o dosis de emulgentes, métodos de elaboración de emulsiones, Halos de inhibición de microorganismos antibacterianos y antifungicos específicos.

Tamaño de muestra

El tamaño de muestra se efectuara según método factorial de ANOVA

Selección de muestra.

La muestra se seleccionara completamente al azar con arreglo factorial entre la totalidad de ensayos.

Técnicas de recolección de datos

Para la identificación y comportamiento de las variables se consideraran los procedimientos de las técnicas de laboratorios de química y microbiología.

Análisis e interpolación de la información.

Las muestras desecadas de hojas y tallos del "orégano" fueron molidas y trasladadas al tubo de extracción de un equipo para destilación por arrastre de vapor de agua. El aceite se separó de la capa acuosa se secó con sulfato de sodio y se filtró. Con este producto se determinó densidad específica, y el índice de refracción. Una alícuota se envió para determinar su composición química.

La composición se determinara mediante un Cromatógrafo de gases con detector de Masas Shimadzu.*;SPB-608,30m x 0,25mm x 0,25 mm Film.Temperatura del inyector 80(C (0,2'), 80-300(C (50(C/min). 1(L.Temperatura del horno: 80(C (8,5') , 80-150(C (45(C/min)150-280(C (8(C/min,6') Carrier gas: Helio, 20,8 psi (0,56') 20,8-24psi(0,1 psi min.) Detector :MS, EI, 20-500uma.3.

Se efectuaron los ensayos correspondientes en el laboratorio de química para emulsionar el aceite de orégano obtenido mediante los métodos mecánicos de elaboración con mezcladora de alto cizallamiento utilizando un Batch 8100 x, y un equipo de ultrasonido . Se observara en el microscopio el tamaño de gotas, y se observara ulteriormente la estabilidad de la emulsión.

La actividad antibacteriana del aceite esencial se determinó por el método semicuantitativo de incorporación en placa de cultivo (7) y por el método de difusión en agar. El medio de cultivo empleado fue Trypticase Soya Agar (TSA) y Trypticase Soya Broth (TSB), esterilizados en autoclave a 121°C x 15 min. Se realizaron las pruebas bioquímicas y confirmativas de los microorganismos antes de cada utilización. Se reactivaron los microorganismos en TSB. Los microorganismos se inocularon en medio agarizado TSA, previamente fundido y enfriado a 45°C. Y para el método de disco difusión el inóculo se repartió de manera uniforme en la superficie del agar. La turbidez del inóculo utilizado fue semejante al tubo No 0.5 (1 x 10⁸ m.o/ml) de la escala MacFarland.En ambos casos 4(L del aceite esencial fue embebido en discos de papel de filtro Watman N°4. Se realizaron 4 repeticiones para cada microorganismo. Luego, las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas.Transcurrido el periodo de incubación se observó la formación de zonas de inhibición procediendo a registrar los diámetros en mm. La lectura se efectuó mediante la medición de halos. Se evaluó a cepas patógenas referenciales tales como Staphylococcus aureus (ATCC 6538P),

Bacillus cereus, Vibrio cholerae (ATCC 14033), E.coli (ATCC 25923), Salmonella cholerae suis (ATCC 14028) Salmonella tiphymurium (aislado INS) y Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853).

BIBLIOGRAFIA Ana Jimenez et al. 2011. Situacion de los desinfectantes de uso ambiental, en industria alimentaria registrados en España tras la publicación de la directiva 98/8 CE

Martinez J. 2005. Desinfeccion. Medicina Veterinaria. Medellin Colombia

Arcila-Lozano et. al., 2004. El orégano: propiedades composición y actividad biológica de sus componentes.

Hernández, A. N.; S. Bautista y M. G. Velázquez. 2007. Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícolas. Revista Fitotecnia Mexicana 30 (2): 119-123.

Cooke, D. E. L.; V. Young, P. R. J. Birch, R. Thoth, F. Gourlay, J. P. Day, S. F. Carnegie and J. M. Duncan. 2003. Phenotypic and genotypic diversity of Phytophthora infestans populations in Scotland (1995-97). Plant Physiology 52:181-192.

Ayala-Zavala et al., 2009. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. Lebensm-Wiss.

Bravo, L. L.; T. Bermúdez y B. Montes. 2000. Inhibición de Fusarium moniliforme mediante polvos vegetales y algunos de sus componentes químicos. Manejo Integrado de Plagas 57: 29-34.

Leroux, P. 2003. Mode of action of agrochemical towards plant pathogens. Comptes Rendus Biologies 326: 9-21.

CONABIO (Comisión Nacional de Biodiversidad). 2005. Orégano Mexicano: oro vegetal. Extraído el 28 de Enero de 2005 en <http://www.conabio.gob.mx/biodiversitas.htm>

Guerrero, E.; S. Solis, F. Hernández, A. Flores, V. Sandoval y D. Jasso. 2007. Actividad biológica invitro de extractos de Flourensia cernua D. C. en patógenos de postcosecha: Alternaria alternata (Fr.:Fr.) Keissl., Colletotrichum gloesporioides

