

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE ACEITES ESENCIALES EN
***Staphylococcus aureus* y *Listeria innocua*.**

Clave de registro: CIN2016A10072

Escuela de procedencia: Colegio Indoamericano, S. C.

Autores: Rodríguez Zaragoza Samantha
Salazar Rueda Irving Jair

Asesores: Dra. Clara Inés Álvarez Manrique
Biól. Ana Lilia Moreno Trejo

Área de conocimiento: Ciencias Biológicas, Químicas y de la Salud

Disciplina: Biología

Tipo de investigación: Experimental

Tlalnepantla de Baz, Estado de México a 19 de febrero de 2016

RESUMEN

Los aceites esenciales (AE) han adquirido gran importancia en los últimos años debido a sus componentes naturales y a sus propiedades bactericidas. Los AE presentan fenoles y monoterpenos en su composición química que deterioran la pared celular, se adhieren a los lípidos de la membrana e inactivan sistemas enzimáticos de las bacterias. El objetivo de esta investigación fue comparar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales no encapsulados de la canela, clavo, tomillo, orégano, timol y carvacrol contra los encapsulados (nanopartículas) de orégano, timol y carvacrol sobre cepas de *Staphylococcus aureus* y *Listeria innocua* ya que son agentes contaminantes que comúnmente se encuentran en los alimentos. Los resultados obtenidos reflejaron que los AE no encapsulados de orégano, timol y carvacrol fue menor a la de los AE encapsulados de orégano, timol y carvacrol. También los AE no encapsulados de orégano, timol y carvacrol tuvieron una menor inhibición que los AE no encapsulados de canela, tomillo y clavo, esto se debe probablemente a la concentración a la que estén elaborados los aceites. Se recomienda el uso de AE con mayor concentración en futuras investigaciones.

ABSTRACT

The essential oils have had a huge significance over the last years because of their natural components and bactericide properties. The essential oils have phenols and monoterpenes in their chemical composition which deteriorate the cell wall, they adhere to the cell membrane lipids besides they inactivate enzymatic systems of the bacteria. The aim of this investigation was to compare the antimicrobial effect that non-encapsulated essential oils of cinnamon, clove, thyme, oregano, thymol and carvacrol versus encapsulated essential oils of oregano, thymol and carvacrol on *Staphylococcus aureus* and *Listeria innocuous* bacterial strains since they are in contaminated foods. The results obtained have proved that the inhibiting potential of non-encapsulated essential oils of oregano, thymol and carvacrol was lower than the encapsulated ones. Additionally, the non-encapsulated essential oils of oregano thymol and carvacrol had a lower inhibiting potential than the non-encapsulated ones of cinnamon, clove and thyme probably due to the concentration of this essential oils. It is suggested to increase the concentration of these essential oils for further research.

INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años, los aceites esenciales han adquirido popularidad debido a que además de ser compuestos de origen natural, poseen propiedades bactericidas y fungicidas que conllevan a una gran importancia médica así como en la industria de los alimentos para la prevención de intoxicaciones ocasionadas por diversas bacterias que se encuentran en el entorno (Asbahani et al., 2015). Se define como aceite esencial (AE) a una mezcla compleja de componentes con hidrocarburos como los terpenos, alcoholes, ésteres, aldehídos, y compuestos fenólicos que provienen del metabolismo secundario de las plantas. La actividad antifúngica y bactericida de estas sustancias está estrechamente relacionada con los fenoles y monoterpenos que poseen, debido a que son capaces de tener una interacción directa con el citoplasma del patógeno o bien, gracias a su hidrofobicidad pueden incorporarse a los lípidos de la membrana celular bacteriana en donde se da lugar a una fuga de iones y otros compuestos de la bacteria.

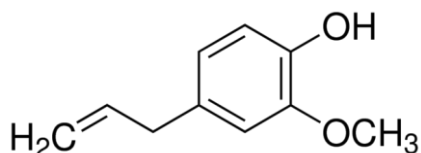


Figura 1. Esquema del Eugenol, uno de los fenoles que se encuentran dentro del AE del clavo.

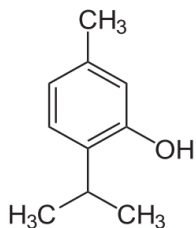


Figura 2. Esquema de la molécula de Timol, fenol presente en el AE del tomillo y el orégano.

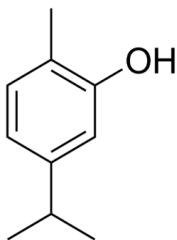


Figura 3. Esquema de la molécula de Carvacrol, fenol presente en el AE del orégano.

JUSTIFICACIÓN Y SUSTENTO TEÓRICO

Los aceites esenciales (AE) son compuestos complejos que se obtienen de diversas plantas y debido a sus propiedades antimicrobianas, se han utilizado a lo largo del tiempo en perfumería, industria farmacéutica, como aditivo para sintetizar compuestos e incluso para la fabricación de productos de higiene personal, así como en el campo de la medicina para la esterilización de equipo médico y para descontaminar el aire. Algunos de los AE con mejor efecto antimicrobiano son clavo, tomillo y orégano (Ramos, M. et al., 2010) y debido a su actividad antimicrobiana representan un posible uso en la conservación de los alimentos para así evitar enfermedades ocasionadas por bacterias que se encuentran en ellos.

OBJETIVO GENERAL

Comparar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales no encapsulados de la canela, clavo, tomillo, orégano, timol y carvacrol contra los encapsulados (nanopartículas) de orégano, timol y carvacrol.

HIPÓTESIS

Los aceites esenciales sin encapsular tienen menor efecto antimicrobiano que los encapsulados.

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Staphylococcus aureus (SA) es una bacteria Gram positiva, considerado un agente frecuente de infección que produce desde infecciones cutáneas superficiales hasta infecciones de partes blandas y ósteo-articulares como abscesos profundos, celulitis, infección de heridas quirúrgicas y osteomielitis entre otros, alcanzando situaciones de gravedad extrema con riesgo de vida. En el caso de los alimentos su presencia se asocia directamente a una inadecuada manipulación o al empleo de materias primas contaminadas, este agente produce diversas enterotoxinas (A, B, C₁, C₂, C₃, D, E, G, H e I) causantes de toxi-infecciones alimentarias, la producción de estas toxinas depende principalmente de la naturaleza del alimento, de los procesos a los cuales fue sometido (crudo, cocido, fermentado) y de su potencial exposición a temperaturas de abuso.

Listeria Monocytogenes es una bacteria Gram positiva que se encuentra frecuentemente en alimentos como leche, verduras crudas, peces y aves de corral; además de que puede seguir creciendo en refrigeración a temperaturas de 4°C. Así

mismo puede crecer en biopelículas sobre la superficie de distintos alimentos. Se asocia con diversos síndromes clínicos; casi siempre como consecuencia por la ingestión de alimentos contaminados (Koneman, E. y Allen, S. 2008).

Orégano

Nombre científico: *Lippia graveolens*

El orégano, se utiliza como antiasmático (control del asma), antiespasmódico (alivio de cólicos), antitusígeno (control de latos y del asma), antihelmíntico (contra lombrices, en mezcla con hierbabuena y tomillo); antiinfeccioso (acción específicamente contra *Staphylococcus aureus*); emenagogo (regulador de la menstruación) y fungicida (acción contra *Candida albicans*). El aceite esencial del orégano contiene muchas sustancias activas como el timol, carvacrol, borneol, ácido cafeico y ácido ulsólico que pueden ser responsables de sus actividades.

Principios activos: Acido carioptosidico, naringenina, pinocembrina, β -felandreno, carvacrol, 1,8-cineol, r-cimeno, metil timol.

Se ha encontrado que el potencial antimicrobiano de los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presentan actividad contra bacterias gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*; y las gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis* (Corella, R. y Ortega, M. 2013).

Canela

Nombre científico: (*Cinnamomun verum* = *Cinnamomun zeylanicum*).

La canela posee propiedades carminativas (ayuda a expulsar gases del tubo digestivo), antiulcéricas, estomacales y antivomitivas. Estas propiedades son utilizadas en problemas digestivos como aerofagia, digestiones difíciles, acidez, vómitos y falta de apetito, así mismo para enfermedades respiratorias como la bronquitis, resfriados y tos; al igual que para enfermedades del sistema circulatorio (Cruz, A., 2011).

Principios activos: Aceite esencial (1,2-2%): aldehído cinámico (50-75%), eugenol (4-10 trazas de carburos terpénicos (pineno, cinel, felandreno, linalol), y de metilamilcetona; glúcidos, mucílagos, taninos, trazas cumarinas.

Tomillo.

Nombre científico: *Thymus vulgaris*.

En el caso del tomillo tiene propiedades digestivas, carminativas, antipútridas, antibiótico natural, emenagogo, antirreumático, tranquilizante, antiséptica, y analgésica (Cruz, A., 2011).

Principios activos: La esencia del tomillo se distribuye por todas las partes de la planta, sobre todo en flores y hojas; posee dos sustancias farmacológicamente energéticas: timol y carvacrol, que pueden variar entre el 3 y 60%. Además se encuentran taninos, aceites y un glucósido.

Clavo

Nombre científico: (*Eugenia Caryophyllata*).

El clavo posee propiedades antisépticas, antiparasitarias, potenciadoras, antiagregantes, antidémicas, antivomitivas, carminativas, antiácidas, gastroprotectoras, antiinflamatorias, bactericidas, antifúngicas, anestésicas, sedativas, fragantes y aromatizantes (González, R. 2002).

Componentes:

Eugenol (80-90%)

Acetato de eugenol (15%)

Beta cariofileno (5-12%)

METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Unidad de Investigación y Posgrado de la FESC- UNAM en un periodo comprendido del mes de octubre a diciembre de 2015, bajo la asesoría de la Dra. Clara Inés Álvarez Manrique.

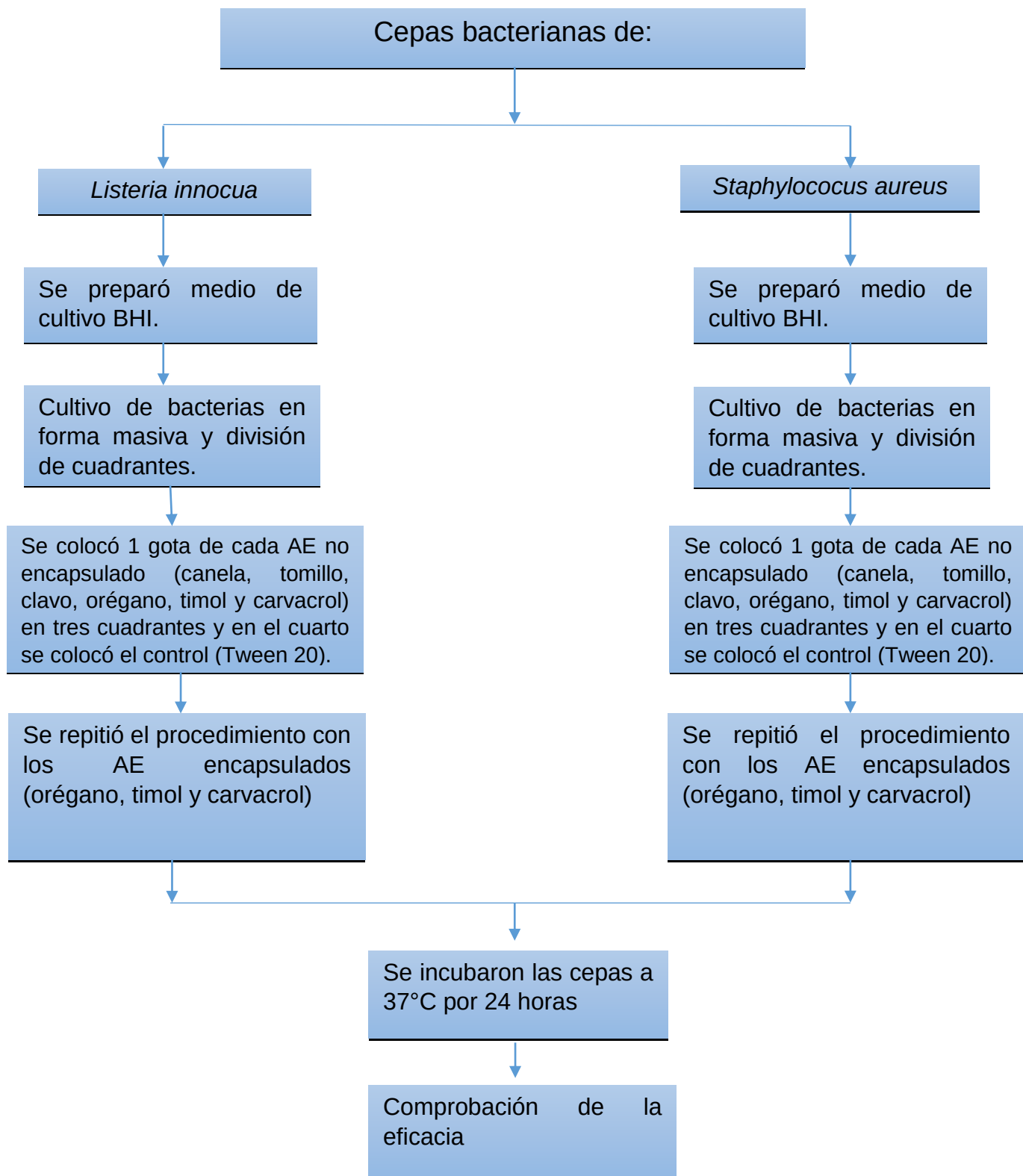


Figura 4. Muestra el diseño experimental.

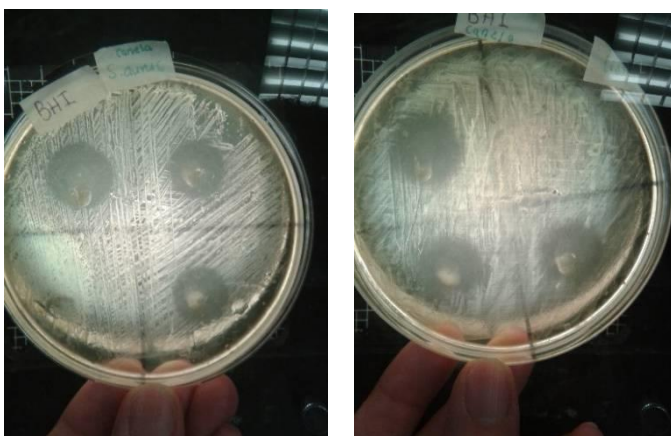
RESULTADOS

Los resultados de inhibición en los aceites esenciales no encapsulados de canela, clavo, tomillo, orégano, timol y carvacrol se encuentran en la Tabla 1.

ACEITES	CANTIDAD APLICADA	<i>S. aureus</i>	<i>L. innocua</i>
Canela	25µl	Inhibición Total	Inhibición Total
Clavo	25µl	Inhibición Total	Inhibición Total
Tomillo	25µl	Inhibición Total	Inhibición Total
Orégano	25µl	Inhibición Parcial	Inhibición Parcial
Timol	25µl	Inhibición Parcial	Inhibición Parcial
Carvacrol	25µl	Inhibición Parcial	Inhibición Parcial

Tabla 1. Resultados de la inhibición in vitro sobre *S. aureus* y *L. innocua* determinados según el área en la que se difundió cada aceite esencial.

ACEITES ESENCIALES NO ENCAPSULADOS



(*S. aureus*)

(*L. innocua*)

Fig. 5 Inhibición del aceite esencial de canela sobre *S. aureus* y *L. innocua*.



(*S. aureus*)

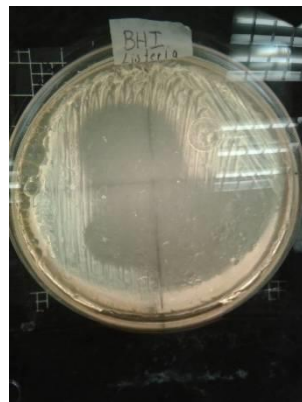


(*L. innocua*)

Fig. 6 Inhibición del aceite esencial de clavo sobre *S. aureus* y *L. innocua*.



(*S. aureus*)



(*L. innocua*)

Fig. 7 Inhibición del aceite esencial de tomillo sobre *S. aureus* y *L. innocua*.

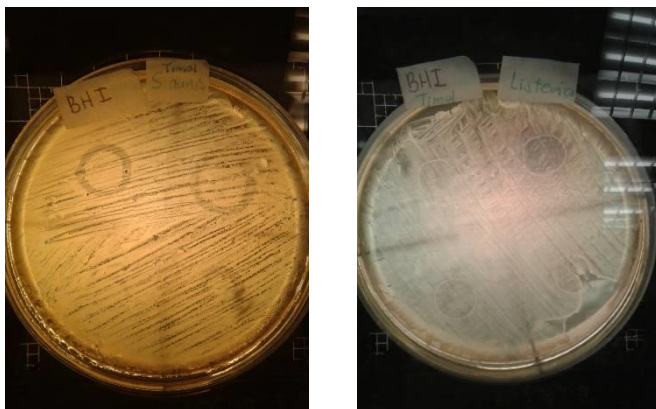


(*S. aureus*)



(*L. innocua*)

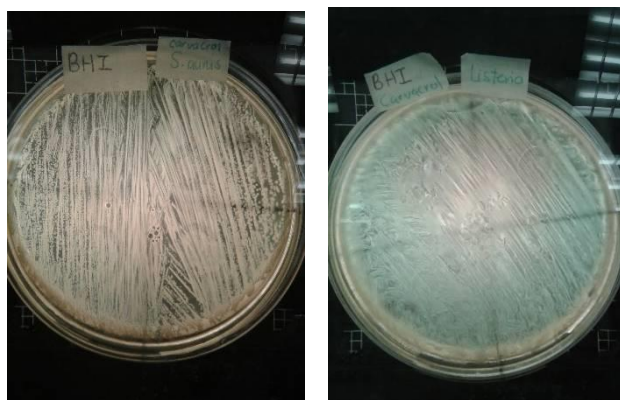
Fig. 8 Inhibición del aceite esencial de orégano sobre *S. aureus* y *L. innocua*.



(*S. aureus*)

(*L. innocua*)

Fig. 9 Inhibición del aceite esencial de timol sobre *S. aureus* y *L. innocua*.



(*S. aureus*)

(*L. innocua*)

Fig. 10 Inhibición del aceite esencial de carvacrol sobre *S. aureus* y *L. innocua*.

Los aceites esenciales de orégano, timol y carvacrol fueron encapsulados (nanopartículas), los cuales presentaron una inhibición total sobre el crecimiento de *S. aureus* y *L. innocua*. Ver Tabla 2.

NANOPARTICULAS	CONCENTRACIÓN	<i>S. aureus</i> (a)	<i>L. innocua</i> (b)	
Orégano	2,500 ppm	Total	Total	Fig. 7
Timol	2,500 ppm	Total	Total	Fig. 8
Carvacrol	2,500 ppm	Total	Total	Fig. 9

Tabla 2. Resultados de la inhibición in vitro sobre *S. aureus* y *L. innocua* aplicado en nanopartículas determinados según el área en la que se difundió cada aceite esencial.

ACEITES ENCAPSULADOS



(*S. aureus*)



(*L. innocua*)

Fig. 11 Inhibición del aceite encapsulado (nanopartículas) de orégano sobre *S. aureus* y *L. innocua*.



(*S. aureus*)



(*L. innocua*)

Fig. 12 Inhibición del aceite encapsulado (nanopartículas) de timol sobre *S. aureus* y *L. innocua*.



(*S. aureus*)



(*L. innocua*)

Fig. 13 Inhibición del aceite encapsulado (nanopartículas) de carvacrol sobre *S. aureus* y *L. innocua*.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

La capacidad de inhibición de los AE no encapsulados de orégano, timol y carvacrol fue menor a la de los AE encapsulados de orégano, timol y carvacrol. También los AE no encapsulados de orégano, timol y carvacrol tuvieron una menor inhibición que los AE no encapsulados de canela, tomillo y clavo, esto se debe probablemente a la concentración a la que estén elaborados los aceites o por algún otro factor como el calor, la oxidación y la luz a la que estuvieron expuestos como se menciona en Asbahani, et.al.,(2015). A pesar de ello presentaron una inhibición parcial y creemos que en una futura experimentación se puedan usar con una mayor concentración y su capacidad de inhibición podría ser mayor o comparable a su presentación en nanopartículas. Para su posible utilidad en la industria alimentaria en donde hay una posibilidad muy amplia de conseguir un beneficio para la conservación de alimentos y así poder evitar enfermedades y alimentos contaminados. Y al ser cualitativo esta investigación el parámetro que se tomó en cuenta al analizar los resultados fue la presencia y ausencia de colonias bacterianas Gram-positivas en donde se aplicó la gota de aceite, formando halos de inhibición en los no encapsulados debido a que se difunden mucho y en los aceites encapsulados no se formó halo de inhibición ya que los aceites en forma de nanopartículas no difunden mucho y solo inhiben en donde se aplica la gota, como lo menciona (Hernández, L. 2011), por tal motivo no fue posible la medición de los halos de inhibición debido a que los aceites encapsulados sí se difundieron y los no encapsulados sólo inhibieron en donde se aplicó la gota de A.E. debido a su espesor.

CONCLUSIONES

- Los aceites comerciales no encapsulados de canela, clavo y tomillo presentaron una buena inhibición sobre las cepas de *S. aureus* y *L. innocua* al igual que los aceites encapsulados (nanopartículas) de orégano, timol y carvacrol aplicados sobre las mismas cepas
- Los aceites de orégano, timol y carvacrol no encapsulados inhibieron parcialmente debido a que probablemente se oxidaron o por la baja concentración de los mismos.
- Se recomienda que para futuras investigaciones se utilicen aceites esenciales con una mayor concentración y de reciente adquisición para obtener una mejor inhibición sobre las cepas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Cruz, A. (2011). *Efecto de los aceites esenciales de Canela (Cinnamomun zeylanicum Blume) y Tomillo (Thymus vulgaris L.) sobre el Desarrollo de Aspergillus flavus y producción de Aflatoxinas en Maíz*. Tesis de licenciatura no publicada, UNAM, México.
- El Asbahani, A. et.al., (2015), Essential oils: From extraction to encapsulation, 7ª Edición, International Journal of Pharmaceutics.
- Fonema, E. y Allen, S. (2008). *Diagnóstico Microbiológico*. Sexta edición. Editorial Médica Panamericana. México.
- Gómez A. y López A. (2009). *Potencial antimicrobiano de los aceites esenciales de orégano (Origanum vulgare) y canela (Cinnamomun zeylanicum)*, Tesis de licenciatura no publicada, UDLAP, Puebla, México.
- González, R. (2002). *Eugenol: Propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso*. Rev. Cubana Estomatol vol.39 no.2 La Habana, Cuba.
- Pacheco, A. (2008). *Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de eucalipto y orégano sobre helicobacter pylori*, Tesis de licenciatura no publicada, UNAM, México.
- Ramos, M. et al. (2010) *Compuestos Antimicrobianos Adicionados en Recubrimientos Comestibles para Uso en Productos Hortofrutícolas*. Rev. Mex. Fitopatol vol.28 no.1 Texcoco, México.

REFERENCIAS ELECTRÓNICAS

- Argerich, M. et al. (2005). *Higiene y Antisepsia del Paciente, Limpieza, Desinfección y Esterilización en el Ámbito Hospitalario*. Recuperado de www.scfarmclin.org.
- Corella, R. y Ortega, M. (2013). *Importancia del aceite esencial y la producción de orégano lippia palmeri watson en el estado de sonora*. Recuperado de <http://www.biotechia.uson.mx/>