

EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Lippia graveolens* COMO INHIBIDOR DE CRECIMIENTO DE *Salmonella* sp, *E. coli* Y *Enterococcus* sp.

Evaluation of the essential oil of *Lippia graveolens* as a growth inhibitor of *Salmonella* sp, *E. coli* and *Enterococcus* sp.

Castellanos-Hernández Osvaldo A.¹, Rodríguez-Sahagún Martha DNSDSJ.², Acevedo-Hernández Gustavo J.¹, Aarland Rayn Clarenc¹ y Rodríguez-Sahagún Araceli^{1*}

¹Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de la Ciénega, Av Universidad 1115 Col Lindavista 47820, Ocotlán, Jalisco, México, ²Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Tonalá, Av Nuevo Periférico 555 Col Ejido San José Tateposco 45425, Tonalá, Jalisco, México

*Autor para correspondencia: aracelics@gmail.com

Resumen

Lippia graveolens es una planta aromática mexicana que hasta ahora se ha utilizando para la industria gastronómica y en zonas marginadas como remedios caseros para combatir múltiples problemas gastrointestinales y respiratorios. En el presente estudio se proporciona evidencia de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial extraído de hojas secas de esta especie sobre tres microorganismos causantes de enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) *Salmonella* sp., *E. coli* y *Enterococcus*. Se encontró que *Salmonella* es más sensible al aceite esencial y *Enterococcus* la más resistente. Estos datos aportan valor a la comercialización y promueven la especie con potencial para la obtención de productos de alto valor agregado, además de representar una opción para mejorar las condiciones de vida de las poblaciones donde se colecta de manera silvestre y que pertenecen a zonas de alta marginación.

Palabras clave: actividad antimicrobiana, aceite esencial, orégano silvestre.

Abstract

Lippia graveolens is a Mexican aromatic plant that, to date, has been used by the food industry, as well as in marginalized areas, as home remedies which combat multiple gastrointestinal and respiratory problems. This study provides evidence of the antimicrobial capacity of essential oil extracted from the dry leaves of this species on three microorganisms that cause foodborne illnesses: (FAD) *Salmonella* sp., *E. coli* and *Enterococcus*. *Salmonella* was found to be more sensitive to the essential oil, and *Enterococcus* the most resistant. These data add value to the commercialization of the plant by increasing the potential of obtaining products with high added value. Additionally, it provides a viable opportunity for improving the living conditions of the populations where it is collected in the wild, which are typically areas of high marginalization.

Key words: antimicrobial activity, essential oil, wild origanum.

Introducción

El sector agropecuario enfrenta retos cada día más difíciles para la generación de materias primas de origen vegetal para el consumo en fresco y para la agroindustria. Los altos costos de producción, un bajo nivel de organización y canales de comercialización ineficientes aumentan la complejidad de los problemas en el medio rural (Cano, 2014).

México cuenta con cerca de 40 especies conocidas de orégano, siendo algunas de ellas endémicas y que se distribuyen en varios estados de la república mexicana. Por ejemplo, 90% de la producción de *Lippia graveolens* en Coahuila se obtiene de zonas silvestres y de este volumen 80% de hoja seca es exportada (CONAFOR, 2009). La producción anual se encuentra alrededor de 3,000 toneladas de las cuales 2,000 son exportadas a Estados Unidos de América. Las exportaciones del orégano mexicano están destinadas también al Reino Unido, Alemania, Francia y Canadá (García-Pérez et al., 2012). La producción de orégano mexicano (*Lippia graveolens*) está fuertemente amenazada debido al abuso en la explotación de plantas silvestres, no existiendo un programa de cultivo que ayude a conocer la demanda nacional y de exportación actual que permita crear una cadena productor-consumidor, evitando la depredación de orégano silvestre, promoviendo en los productores el interés por desarrollar cultivos comerciales.

A nivel mundial se han incrementado los estudios relacionados con los aportes a la recuperación de la

salud humana a partir del uso de aceites esenciales de diversas especies vegetales. Uno de los problemas de salud que más afecta a la población en general son las enfermedades de transmisión alimentaria. *E. coli*, *Salmonella* y *Enterococcus*, son ejemplos de patógenos que se transmiten por alimentos, provocando severos daños a la salud y grandes pérdidas económicas. El uso de aceites esenciales tiene un fuerte incremento en el mercado de los alimentos funcionales conocidos como "alimentos para uso específico de la salud" (foods for specified health use) (Maruyama et al., 2017). Japón, líder mundial en su desarrollo, es el primer país que ha legislado su aprobación. La formulación de alimentos nutritivos y saludables que favorezcan la prevención de enfermedades permitirá cubrir la demanda de los consumidores (Kiesel et al., 2011).

Las condiciones ambientales donde habitan estas especies influyen en la cantidad y composición de sus aceites esenciales, de tal forma que al orégano mexicano (*Lippia graveolens* y *L. palmeri*) la American Spice Trade Association (ASTA) lo describe como un orégano con un sabor más fuerte, con hojas más largas y con un mayor contenido de aceites esenciales (3-4%), en comparación con el del mediterráneo (especies de *Origanum*) que provienen de Grecia, Turquía o Albania que contienen entre 2-2.5% (Lecona-Uribe et al., 2006). El objetivo de esta investigación es determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial del orégano mexicano *Lippia graveolens* originario del norte de Jalisco sobre *E. coli* sp, *Salmonella* sp y *Enterococcus* sp tratando de fundamentar el uso del aceite esencial en

la conservación de alimentos y el efecto de inhibición sobre algunas bacterias infectocontagiosas relacionadas con la contaminación alimentaria.

Materiales y métodos

Extracción del aceite

Se pesaron 100 gr de hojas secas de órgano y se colocaron en un matraz Erlenmeyer para el sistema de destilación por arrastre de vapor. Transcurridas tres horas, lo recolectado se pasó a una perilla de decantación y se separó el aceite con éter de petróleo. Posteriormente se concentró la muestra evaporando el solvente.

Actividad antimicrobiana por el método de sensidiscos

Se utilizaron dos diferentes medios de cultivo, Mueller Hinton para *Salmonella* y *E. coli* (Ashraf et al., 2017) y agar sangre para *Enterococcus* vaciados en cajas Petri (Gamboa et al., 2016). Las cepas caracterizadas de los organismos, se obtuvieron de un laboratorio del mismo Centro Universitario. Una vez solidificados los medios se inocularon

respectivamente cada bacteria con una carga bacteriana de 5×10^8 cel/mL. Posteriormente a cada caja se colocaron los discos estériles de papel filtro, de acuerdo a los siguientes tratamientos: sin aceite, 1 μ L, 3 μ L y 5 μ L de aceite esencial de orégano. Las cajas se incubaron a 35 °C por 24 horas. Transcurrido este tiempo, se midió el diámetro del halo de inhibición producido utilizando un vernier.

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos obtenidos se realizaron análisis de varianza y pruebas de rangos múltiples utilizando el programa Past 3. El diseño experimental utilizado fue un análisis de un factor con tres réplicas.

Resultados y discusión

El rendimiento final del aceite esencial obtenido fue de 3.8% v/p de hoja seca de *L. graveolens*. El análisis de los halos de inhibición de cada bacteria después de 24 h de incubación con 1.0 μ l, 3.0 μ l y 5.0 μ l de aceite esencial de orégano mexicano, pueden observarse en la Figura 1.

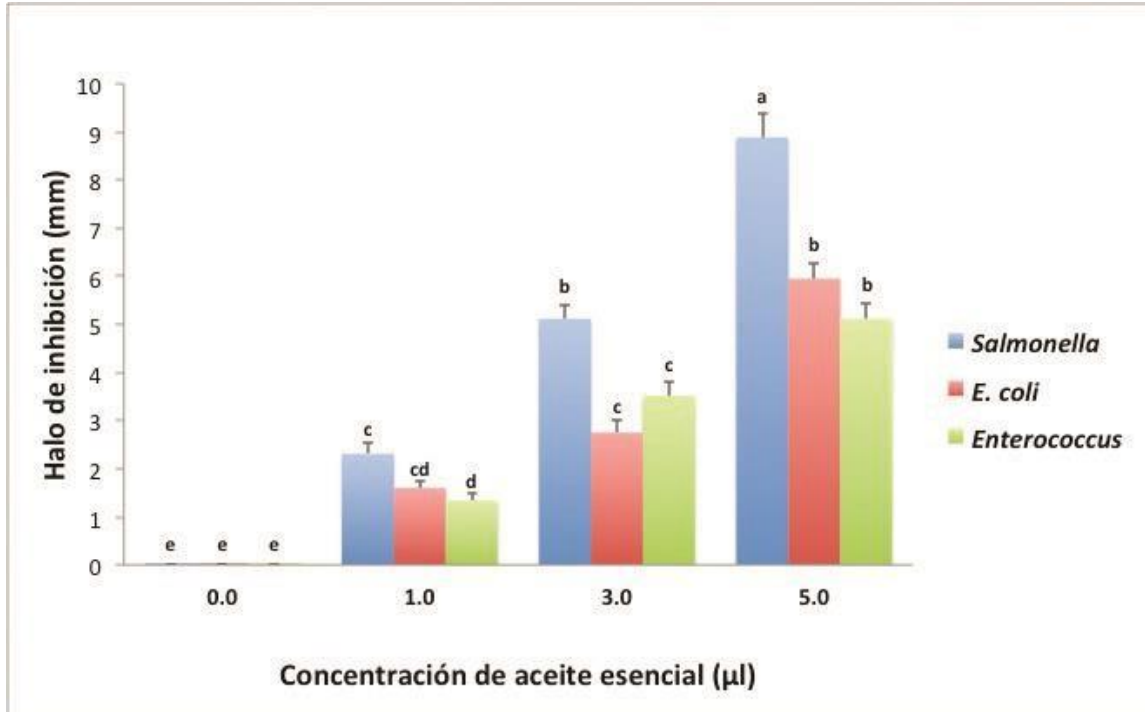


Figura 1. Evaluación antimicrobiana del aceite esencial de *Lippia graveolens*. Se evaluaron tres diferentes concentraciones de aceite esencial de *Lippia graveolens* sobre la inhibición de crecimiento de *Salmonella* sp., *E. coli* sp. y *Enterococcus* sp. Las letras representan grupos homogéneos; diferentes letras indican diferencia significativa ($P < 0.05$).

El aceite esencial presenta inhibición en las tres concentraciones probadas sobre la inhibición de los tres patógenos estudiados. No se observaron halos de inhibición en ninguno de los microorganismos estudiados cuando solo se colocaba el sensibilizador sin aceite esencial (Control). Se evidenció que las concentraciones 1.0 y 5.0 µL de aceite esencial sobre *Salmonella* fue la bacteria más sensible al aceite y *Enterococcus* mostró la mayor resistencia al agregar 1.0 y 5.0 µL de aceite esencial. La mejor concentración para la inhibición de estos microorganismos fue la concentración más alta (5.0 µL), se ha reportado la inhibición de estas bacterias mediante el aceite esencial de orégano europeo (*Origanum vulgare*) a concentraciones similares a las obtenidas en el presente estudio (Paredes Aguilar et al., 2007),

Zaika y col. encontraron que a concentraciones del orden de 0.5 a 8.0 g/L de aceite esencial de orégano tienen un fuerte efecto bacteriostático en los géneros *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus acidilactici* que son comunes en procesos fermentativos de alimentos (Zaika et al., 1983).

Según un estudio con *Origanum vulgare* frente a *E. coli* se obtuvo un halo de inhibición de 1.62 mm con 5 µL de aceite esencial (Chávez Torres et al., 2008). Esto comparado con los resultados del presente reporte, la especie del norte de Jalisco *Lippia graveolens* tiene un halo de inhibición de 5 veces mayor. Esto nos sugiere que la actividad antimicrobiana depende de muchos factores tales como especie,

condiciones geográficas, periodos de cosecha y el método de extracción.

Conclusiones

El resultado de la presente investigación confirma que el aceite esencial de orégano tiene poder antimicrobiano sobre *Salmonella sp.*, *E. coli* y *Enterococcus*, principales bacterias que contaminan alimentos. Se encontró que *Salmonella* es más sensible al aceite esencial y *Enterococcus* la más resistente.

La presente investigación puede servir como base para la explotación del orégano de Jalisco para ser usado como aditivo o conservador en productos alimenticios, cuidando siempre que no se pierdan las propiedades organolépticas del producto. Se recomienda estudiar las fracciones del aceite sobre estos y otros patógenos para conocer más a fondo la composición y posible uso de este.

Literatura citada

- Ashraf, S. A., Al-Shammari, E., Hussain, T., Tajuddin, S., & Panda, B. P. 2017. In-vitro antimicrobial activity and identification of bioactive components using GC-MS of commercially available essential oils in Saudi Arabia. *Journal of* 54(12), 3948–3958.
- Cano, J. E. S. 2014. La política agrícola en México, impactos y retos. *Revista mexicana de agronegocios*, 35, 946-956.
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2009. Fichas de información comercial de productos forestales. Coordinación General de Educación y Desarrollo Tecnológico, Gerencia de Desarrollo y
- Transferencia de Tecnología. Fondo Sectorial para la Investigación, el Desarrollo y la Innovación Tecnológica Forestal, SEMARNAT, México, D. F
- Chavez Torres, Diaz Castañeda, Escalante Rosadio y col. 2008. Efecto sinérgico del aceite esencial de *Origanum vulgare* a la Gentamicina en cultivos de *Escherichia coli*. *CIMEL*, 2008, vol.13, no.2, p.45-48. ISSN 1680-8398.
- García-Pérez Enrique, Castro-Álvarez Fernando Francisco, Gutiérrez-Urbe Janet Alejandra, y García-Lara Silverio. 2012. Revision of the production, phytochemical composition, and nutraceutical properties of Mexican oregano. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(2), 339-353.
- Gamboa F., García Dabeiba-Adriana, Lamby Claudia Patricia, & Sarralde Ana Lucía. 2016. Biotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *S. mutans* en niños con y sin caries dental. Biotypes and antimicrobial susceptibility of *S. mutans* in children with and without dental caries. *Revista Colombiana de Ciencias Químico - Farmacéuticas*, 45(2), 288-304
- Kiesel, K., McCluskey, J. J., & Villas-Boas, S. B. 2011. Nutritional labeling and consumer choices. *Annu. Rev. Resour. Econ.*, 3(1), 141-158.
- Lecona-Urbe S., Guadalupe Loarca-Piña, Cynthia Arcila-Lozano, and Keith R. Cadwallader. 2006. Chemical Characterization of *Lippia graveolens* Kunth and Comparison to *Origanum vulgare* and *Origanum laevigatum* 'Herrenhausen'. *Hispanic Foods*. 4: 45-55

- Maruyama, K., Kihara-Negishi, F., Ohkura, N., Nakamura, Y., Nasui, M., & Saito, M. 2017. Simultaneous determination of catechins and caffeine in green tea-based beverages and foods for specified health uses. *Food and Nutrition Sciences*, 8(3), 316-325.. 8-9 p.
- Paredes Aguilar, Gastélum Franco, Silva Vázquez. 2007. Efecto antimicrobiano del orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) y de su aceite esencial sobre cinco especies del género vibrio. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 261-267.
- Zaika, L. L., Kissinger, J. C., & Wasserman, A. E. 1983. Inhibition of lactic acid bacteria by herbs. *Journal of Food Science*, 48(5), 1455-1459.