

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias



Una Institución Adventista

Determinación de capacidad inhibitoria microbiana con aceite esencial de Naranja (*Citrus x sinensis*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* por el método antibiograma

Por:

Denilson Romario Condori Condori

Abel Vilcazan Huayta

Asesor:

Ing. Alex Danny Chambi Rodriguez

Juliaca, diciembre de 2019

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE
INVESTIGACIÓN

Ingeniero Alex Danny Chambi Rodriguez de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura , Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias , de la Universidad Peruana Unión.

DECLARO:

Que el presente trabajo de investigación titulado: "Determinación de capacidad inhibitoria microbiana con aceite esencial de Naranja (*Citrus x sinensis*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* por el método antibiograma" constituye la memoria que presentan los estudiantes Denilson Romario Condori Condori, Abel Vilcazan Huayta para aspirar al grado de bachiller en Ingeniería de Industrias Alimentarias, cuyo trabajo de investigación ha sido realizado en la Universidad Peruana Unión bajo mi dirección.

Las opiniones y declaraciones en este trabajo de investigación son de entera responsabilidad del autor, sin comprometer a la institución.

Y estando de acuerdo, firmo la presente declaración en Juliaca, 2 de diciembre del 2019



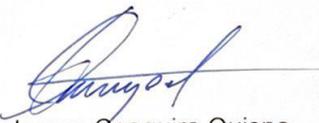
Ing. Alex Danny Chambi Rodriguez

Determinación de capacidad inhibitoria microbiana con aceite esencial de Naranja (*Citrus x sinensis*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* por el método antibiograma.

Trabajo de Investigación

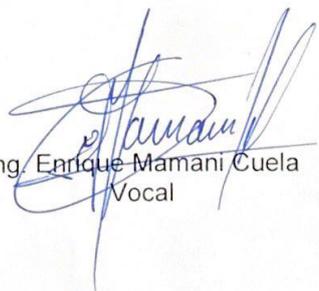
Presentada para optar el grado de bachiller de Ingeniería de Industrias Alimentarias

JURADO CALIFICADOR


Ing. Joel Jerson Coaquira Quispe
Presidente


MSc. Carmen Rosa Apaza Humerez
Secretaria


Ing. Edgar Mayta Pinto
Vocal


Ing. Enrique Mamani Cuela
Vocal


Ing. Alex Danny Chambi Rodriguez
Asesor

Juliaca, 02 de diciembre de 2019

Determinación de capacidad inhibitoria microbiana con aceite esencial de Naranja (*Citrus x sinensis*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* por el método antibiograma.

Condori Condori Denilson Romario¹ Vilcazan Huayta Abel²

*“EP. Ingeniería de industrias alimentarias, Facultad de Ingeniería y Arquitectura, Universidad Peruana Unión
email@gmail.com*

Resumen

El objetivo de este trabajo de investigación es, evaluar los tipos de aceites esencial de romero y naranja, sobre el efecto inhibitorio bacteriano con las fuentes de aceite esenciales frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Se obtuvo el aceite por hidrodestilación asistido por microondas a un nivel de potencia de 50 (500W) por 80 min. Se determinó los halos de inhibición con aceite de romero, donde presentó las diluciones a 25%, 50% y 75% frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, con dilución de aceite esencial de naranja frente a *E. Coli* al 25, 50%, 75%, después frente a *S. aureus* 25%, 50%, 75%. Los resultados obtenidos fueron en halos (mm) de Inhibición, frente a *Esherichia coli*, con aceite esencial de naranja fue de 10.94 mm a 11.59 mm y con aceite esencial de romero fue de 9.54 mm a 11.69 mm. Y frente a *Staphylococcus aureus* con aceite esencial de naranja fue de 9.01 mm a 11.27 mm de inhibición y con aceite esencial de romero fue de 9.03 mm a 11.02 mm. Según los resultados obtenido se puede apreciar que hubo mayor inhibición microbiana con el aceite esencial de naranja en *E. Coli* y *S. aureus*. El potencial antimicrobiano de los aceites esenciales, ya que se debe a la presencia de taninos, saponinas, compuestos fenólicos, aceites esenciales y flavonoides, compuestos biológicamente activos con actividad antimicrobiana y también mientras más cantidad de aceite esencial se añade es mayor la inhibición microbiana.

Palabras clave: Inhibición microbiana , Romero, Naranja *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

Abstract

The objective of this research work is to evaluate the types of essential oils of rosemary and orange, on the bacterial inhibitory effect with the essential oil sources against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The oil was obtained by microwave-assisted hydrodistillation at a power level of 50 (500W) for 80 min. Inhibition halos were determined with rosemary oil, where it presented in dilutions at 25%, 50% and 75% against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, with dilution of orange essential oil against *E. Coli* at 25, 50 %, 75%, then vs. *S. aureus* 25%, 50%, 75%. The results obtained were in halos (mm) of Inhibition, compared to *Esherichia coli*, with orange essential oil it was 10.94 mm to 11.59 mm and with rosemary essential oil it was 9.54 mm to 11.69 mm. And against *Staphylococcus aureus* with orange essential oil was 9.01 mm to 11.27 mm of inhibition and with rosemary essential oil it was 9.03 mm to 11.02 mm. According to the results obtained, it can be seen that there was greater microbial inhibition with the orange essential oil in *E. Coli* and *S. aureus*. The antimicrobial potential of essential oils is due to the presence of tannins, saponins, phenolic compounds, essential oils and flavonoids, biologically active compounds with antimicrobial activity, and also the more essential oil is added, the greater the microbial inhibition.

Keywords: Microbial, Rosemary, Orange *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* inhibition.

1. Introducción

Staphylococcus aureus está formado por cocos Gram positivos en forma de racimo, es común en los humanos y animales, su hábitat principal en las fosas nasales, en la piel y tracto gastrointestinal, responsable de un amplio espectro de enfermedades, que van desde infecciones de la piel graves que amenazan con la vida y es resistente a múltiples antibióticos, sobre todo a la metilina (Montero, Mira, Avilés, Pazmiño, & Erazo, 2018). Según (FAO) el microorganismo *E. Coli* es una bacteria más común y se encuentra en el sistema digestivo de los animales y los seres humanos, en los últimos años hubo un impacto significativo en los sistemas de salud y producción agrícola, cientos de miles personas se enferman cada año a causa de la *E. Coli* y se produjo cientos de muertes. Las cepas de *E. Coli* patógenas son causas importantes de enfermedad diarreica aguda (EDA) se da mayormente en niños menores de 5 años, la EDA es también una de las causas más importantes de mortalidad (Gomez, 2014).

En la actualidad, la tendencia es consumir alimentos como frutas y hortalizas libres de químicos ya que estos con el tiempo generan problemas contra la salud como cáncer y enfermedades degenerativas, como también la intoxicación este se debe a los preservantes químicos Benzoatos, Nitritos, Nitratos, anhídrido sulfúrico (SO₂), entre otros esto nos lleva a buscar otras alternativas de preservación de los alimentos que cubran las propiedades antimicrobianas (Sauceda, 2011).

Según Vega et al. (2017), afirma que en la actualidad los alimentos están propensos a la contaminación microbiana por la manipulación ya sea durante el almacenamiento. El transporte o en algún momento de la cadena agroalimentaria estos se contaminan de modo que traen consigo pérdidas significativas en la calidad y la composición de los nutrientes. Según (Alzamora, Morales, Armas, & Fernandez. Gilma, 2001), estos pueden ocasionar en el consumidor las conocidas enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) que constan desde dolores de cabeza o incluso la muerte es por eso que la organización de naciones unidas (ONU) de la alimentación afirma que los casos registrados de pérdidas de alimentos.

Según Pitarch (2000), los aceites esenciales se han convertido en un tema de investigación ya que estos dan beneficios en la industria alimentaria, ha demostrado una importancia frente a microorganismos de presentación positivos y negativos, con el fin de garantizar la seguridad alimentaria, también los aceites esenciales son de amplio uso en la industria farmacéutica, cosmética, perfumería y alimentaria; siendo en esta última muy importante ya que los aceites esenciales cumplen la función de dar sabor y conservar una gran variedad de productos alimenticios.

El objetivo de este trabajo de investigación es, evaluar los tipos de aceites esencial de romero y naranja, sobre el efecto inhibitorio bacteriano frente a *E. coli* y *S. aureus*.

2. Metodología

2.1 Materia prima

La materia prima como la naranja (*Citrus x sinensis*) y el romero (*Rosmarinus officinalis*), se obtuvieron de los mercados de la ciudad de Juliaca, la naranja proveniente de la provincia de la Convención y el romero de la provincia de Moho.

2.2 Extracción de aceite

Para la extracción de los aceites esenciales se utilizó el método de Hidrodestilación asistido por microondas. La cáscaras de la naranja y el romero fueron seleccionados con uniformidad para luego extraer el aceite esencial, luego se pesó solo lo seleccionado, 100g de romero y 100g de la cáscara de naranja, se acondicionó en un balón de 500ml, con 300 ml de agua una relación de 1:3, y se puso en la microonda por 80 min, a un nivel de potencia 50 (500 W), luego se separó el aceite del agua por decantación, para luego

envasarlo y congelar a -15°C , para separar el agua restante del aceite ya que la temperatura de congelación es diferente en ambas soluciones.

2.3 Obtención de cepas

Las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, fue obtenido del Hospital local “Carlos Monje Medrano” del laboratorio clínico del Área de microbiología.

2.4 Método antibiograma

Para la determinación de la capacidad mínima inhibitoria de los microorganismos en estudio se aplicó el procedimiento realizado por Luna, Garcia & Lopez (2009), con algunas modificaciones.

Se preparó el caldo Peptonada en 20 ml en un matraz de 50 ml, y se pasó a esterilizar a 120°C por 15 min, se realizó un sembrado por dilución de colonias en medio líquido luego se procedió a incubar a 37°C por 24 horas. Se preparó el medio agar Mueller Hinton y calentar durante 1 min, luego se llevó al equipo “auto clave” juntamente con los materiales: Placas Petri, tubos de ensayo, pinza, hisopos y discos de sensibilidad, durante 15 min a 121°C . Se vertió el medio agar Mueller Hinton en placas Petri estériles aproximadamente 25 ml por placa, se dejó gelificar durante 5 min en un lugar estéril después de 5 min, se aplicó la muestra de *E. Coli* previamente preparado en las 6 placas y caldo Peptonada para *S. aureus* se realizó la estriada a 6 placas Petri. Luego se colocó los discos de sensibilidad en las placas Petri en 4 lugares, no menor de 15mm y de 1.5cm, del borde de la placa utilizando la pinza estéril. Se realizó las diferentes diluciones de aceite esencial de naranja, romero con alcohol en 25%, 50% y 75%. Luego se separó en placas Petri para ser aplicado con diferentes concentraciones o diluciones en los discos con una micro pipeta colocando 1 μl de la dilución, se rótulo los datos con un marcador el tipo de muestra en las placas Petri de *E. Coli* y *S. aureus* y las diferentes concentraciones de aceite esencial (25%, 50%, 75%). Se colocó las placas Petri (triplicado) en una estufa, incubadora a 37°C por 24 horas, luego se procedió a medir los halos de inhibición con un Calibre (pie de rey), el dato obtenido se analizó mediante un diseño estadístico, diseño completamente al azar.

3. Resultados y Discusiones

Tabla 1

Halos de inhibición para E. Coli a diferentes concentraciones de aceite esencial de romero y naranja.

	<i>E. Coli</i>		
	25%	50%	75%
Naranja (mm)	10.94 \pm 0.58 ^a	10.19 \pm 0.82 ^a	11.59 \pm 1.72 ^a
Romero (mm)	9.54 \pm 1.12 ^a	10.68 \pm 1.21 ^a	11.69 \pm 0.41 ^a

Con un P valor de 0.25 frente a naranja y 0.16 del romero siendo estadísticamente no significativo.

Según Montero (2019), en su investigación, trabajo con aceite esencial de eucalipto a concentraciones de 30%, 60% y 90%, donde obtuvo resultados en milímetro (mm) frente a *E. coli* fueron 10.25, 10.65 y 10.95, además Rivera & Ortega (2017), refiere a que las bacterias tiene menos resistencia a la acción y los *E. Coli* son menos susceptibles comparado a otras bacterias sometidas a estudio frente a aceites esenciales evaluada por Castañeda (2013), en el estudio de Ochoa, Paredes, Liz, & Justino (2012) refieren que algunos aceites

esenciales son capaces de inhibir el crecimiento de ciertos tipos de bacterias, este efecto es por los fenoles isoméricos que están presentes en el carvacrol y el timol, estos son bajos en pH según Gallegos (2015) .

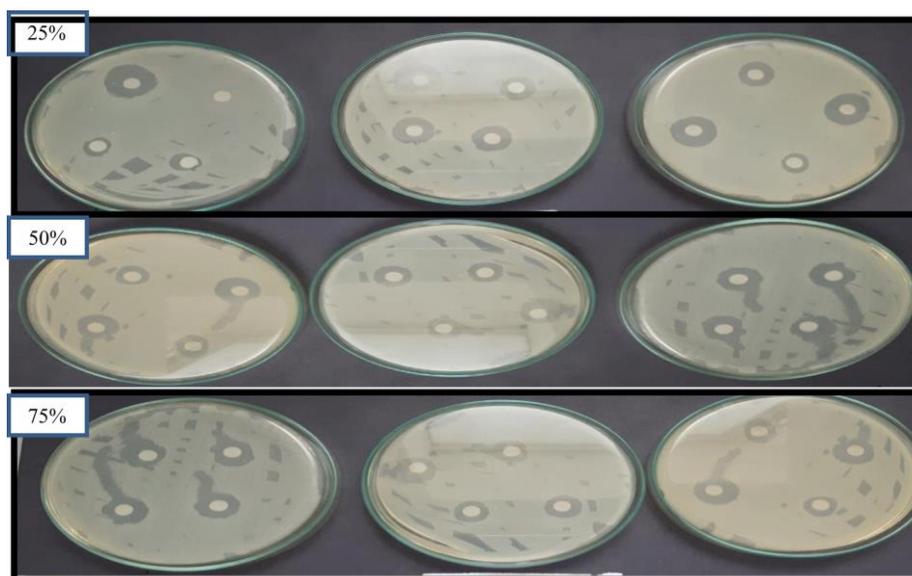


Figura 1. Halos de inhibición frente E. Coli.

Tabla 2

Halos de inhibición para *S. Aureus* a diferentes concentraciones de aceite esencial de romero y naranja.

	S. Aureus		
	25%	50%	75%
Naranja (mm)	9.01 ± 0.91 ^a	9.62 ± 1.91 ^a	11.27 ± 1.16 ^a
Romero (mm)	9.03 ± 1.12 ^a	9.47 ± 1.47 ^a	11.02 ± 0.84 ^a

Con un P valor de 0.10 frente a naranja y 0.09 del romero siendo estadísticamente no significativo.

Tabla 3

Determinación de halos de Crecimiento en (mm) en *Staphylococcus aureus*

A. esencial	Staphylococcus aureus					
	25%	50%	75%	Varianza	desviación Estándar	Coficiente variabilidad
Muña	9.9600 mm	10.7408 mm	13.1533 mm	2.7712	1.665	0.1475
Eucalipto	11.7200 mm	13.5608 mm	14.3767 mm	1.8520	1.361	0.1029

Según Laura (2019), nos muestra en la tabla 3 los resultados de la capacidad mínima inhibitoria en su trabajo de investigan, donde trabajo con dos tipos de aceites esenciales de muña y eucalipto.

Según Montero (2019), en su investigación, trabajo con aceite esencial de eucalipto a concentraciones de 30%, 60% y 90%, donde obtuvo resultados en milímetro (mm) frente a *S. aureus* donde fueron 10.95, 13.65 y 14.45. La medida de los halos de inhibición que se aprecia en la tabla 2 frente a la bacteria *S. Aureus* con el aceite de naranja y aceite esencial de romero, en su trabajo Alarcón, Pájaro, & Méndez (2017), indica que los aceites tienen una propiedad lipofílicas o hidrofílicas estos afectan la actividad enzimática catalizadora y afecta a nivel de la membrana este efecto hace que interfiera en la translocación de protones, Vega et al. (2017), refiere que los aceites esenciales son una opción muy buena porque tienen un efecto antibacteriano y no solo ello si no también antifúngica e insecticida, adicionalmente Quichca (2017),

afirma que la utilización de aceite esencial es limitada en el sector alimentario, debido a su eficacia como agente antimicrobiano y solo se pueden utilizar dosis limitadas que no puedan exceder los niveles aceptables.

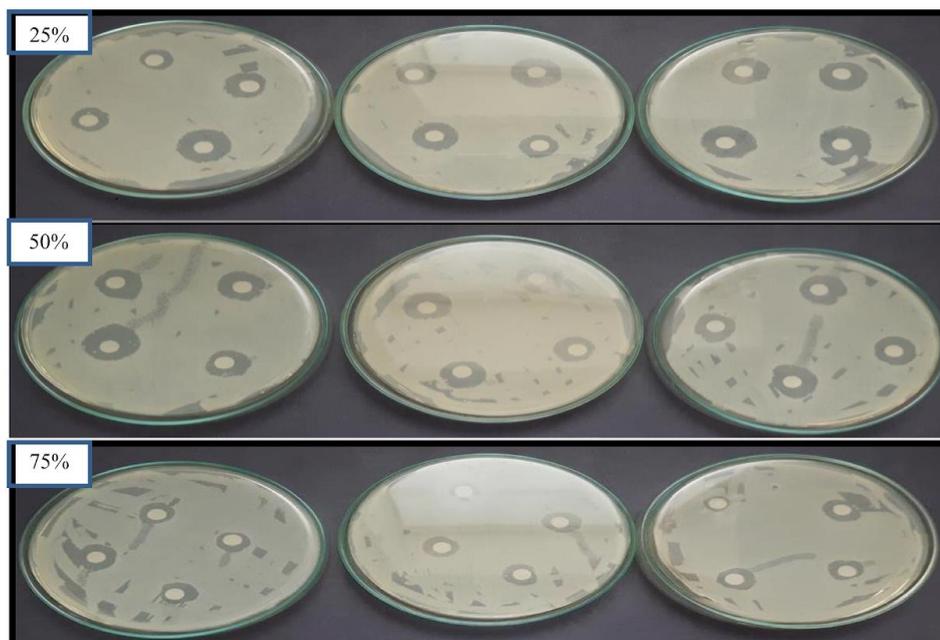


Figura 2. Halos de inhibición frente a *S. Aureus*.

4. Conclusión

Podemos concluir que hay una mayor inhibición microbiana con el aceite esencial de naranja frente a *E. coli* y *S. aureus*, también el aceite de romero es una alternativa para usar como inhibidor bacteriano porque no hubo mucha diferencia en los resultados inhibitoria obtenidos.

Se puede aprovechar la cáscara de las naranjas, residuos de los comercios de jugos para obtener aceite esencial y aplicarlas como tratamientos contra los microorganismos presentes como *E. coli* y *S. aureus* en cualquier ámbito.

El potencial inhibitorio microbiano de los aceites esenciales se debe a la presencia de taninos, saponinas, compuestos fenólicos, aceites esenciales y flavonoides, compuestos biológicamente activos con actividad microbiana.

Bibliografía

- Alarcón, M., Pájaro, N., & Méndez, G. (2017). *Actividad anti bacteriana in vitro de aceites esenciales de diferentes especies del genero Citrus*. Artículo, 1–16.
- Alzamora, L., Morales, L., Armas, L., & Fernandez. (2001). *Medicina Tradicional en Perú, Actividad anti microbiana in vitro de los aceites esenciales extraídos de algunas plantas aromáticas*. Artículo , 62, 1–5.
- Castañeda, W. A., & Prado, C. J. (2015). Efecto inhibitorio in vitro del aceite esencial de las hojas de *Mintostachys mollis* (muña) sobre colonias de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. *Rev. Simiykita*, 1(1).
- FAO, O. *Prevención de la E. Coli en los alimentos*.
- Gomez, O. D. (2014). Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* enteropatógenas en Colombia. *Vanderbilt University School of Medicine*.
- Gallegos, V. (2015). *Actividad Antimicrobiana in vitro de colutorios elaborados con aceites esenciales de luma chequen (Feuillee ex molina) A. gray "Arrayan y Mintostachys spicata (Benth). Epling "yueaq muña " frente ala cepa de streptococcus mutans ATCC 25175*. Peru.
- Luna, P., Garcia, P., & Lopez, M. (2009). *Aceites esenciales: Métodos de extracción*. Artículo , 1–9. Retrieved
- Laura Ticona, J. (2019). *Evaluación de la actividad antimicrobiana in vitro de los aceites esenciales de eucalipto (Eucalyptus globulus labill); muña (Mintostachys mollis) frente a Staphylococcus aureus y Coliformes fecales*.
- Montero, R. M., Mira, J. C., Avilés, E. D., Pazmiño, M. P., & Erazo, G. R. (2018). Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre una cepa de *Staphylococcus aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. ISSN 1609-9117.
- Montero-Recalde, M., Morocho-Núñez, M. J., Avilés-Esquivel, D., Carrasco-Cando, Á., & Erazo-Gutierrez, R. (2019). *Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (Eucalyptus spp) sobre cepas de Escherichia coli y Staphylococcus aureus subsp. aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(2), 932-938.
- Ochoa, P., Paredes, R., Liz, D., & Justino, R. (2012). *Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de Senecio graveolens Wedd (Wiskataya)*. Artículo , 291–302.
- Peredo, H., Palou, E., & López, A. (2009). Aceites esenciales: métodos de extracción. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 3(1), 24-32.
- Pitarch, C. (2000). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales. *Articulo* .
- Quichca Mendoza, J. C. (2017). *GRADO DE EFICACIA DEL ACEITE ESENCIAL DE Mintostachys mollis (muña) Y CLORHEXIDINA AL 0, 12% EN LA INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE Porphyromonas gingivalis. ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO. LIMA 2016*.
- Rivera, A., & Ortega, M. (2017). *Microbiological conservation of carnic product with 6l essential oils Eugenia caryophyllata and Thymus vulgaris*. Article, 1–12.
- Sauceda, E. N. R. (2011). *Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas*. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 7(1), 153-170.
- Vega, F., Montenegro, Z., Delgado, M., Alvarez, J., Benavides, A., & Ospina, J. (2017). Evaluación de la capacidad inhibidora de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Articulo*.