



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
NÚCLEO DE SUCRE  
ESCUELA DE CIENCIAS  
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA FLOR DE  
*Syzygium aromaticum* CONTRA HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DE  
HARINA DE MAÍZ PRECOCIDA PARA CONSUMO HUMANO  
(Modalidad: Tesis de Grado)


DORIANDEL VALLE AMAYA RUIZ Y JESÚS ALI MALAVÉ MORALES

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2023

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA FLOR *Syzygium aromaticum* CONTRA HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DE HARINA DE MAÍZ PRECOCIDA PARA CONSUMO HUMANO

APROBADO POR



M.Sc. Luz Milagros Salazar  
Asesora



Profa. Milagros Fariñas  
Jurado Principal



Profa. Josefa Díaz  
Jurado Principal

## INDICE

DEDICATORIA .....	IV
DEDICATORIA .....	V
AGRADECIMIENTO .....	VI
AGRADECIMIENTO .....	VII
LISTA DE TABLAS .....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
RESUMEN .....	X
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	6
Muestra .....	6
Procesamiento de las muestras .....	6
Aislamiento de los hongos filamentosos .....	6
Identificación de los hongos aislados .....	7
Material vegetal .....	8
Extracción etanólica.....	8
Cepas fúngicas .....	9
Suspensión de conidios.....	9
Evaluación de la actividad antifúngica por el Método de Difusión en Agar.....	9
Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).....	10
Análisis de datos .....	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	11
CONCLUSIONES .....	21
RECOMENDACIONES.....	22
BIBLIOGRAFÍA .....	23
<b>METADATOS .....</b>	<b>28</b>

## DEDICATORIA

A

Dios en primer lugar porque sólo él sabe las veces que me otorgó las fuerzas para continuar cuando más las necesitaba y por cada una de las personas que colocó en mi camino justo en el momento indicado.

Mis padres, que desde siempre han confiado plenamente en mí, en mis capacidades y en lo que puedo lograr. Por acompañarme y apoyarme siempre en lo que sea que decida hacer.

Mi hermana Rosangel, mi hermano Sebastián, quienes me impulsaron a demostrarles que, con mucho sacrificio, esfuerzo y sobre todo paciencia, pueden lograr lo que se propongan.

Mi abuela Rosa, quien me apoyó en todo momento y de todas las formas posibles, inmensamente agradecida de ti, mi tía Jeanexy quien a distancia fue muchísimas veces gran aliento para mí y apoyo, Así como también, mis tíos Franklin, Eduardo, Roxibel, Norma, Hernán y Marina.

Mi amiga y hermana Aleida Carvajal por ser mi cómplice en todo desde el inicio y por apartarme las ganas de desistir en infinitas oportunidades, a su familia también, estaré infinitamente agradecida por el apoyo que me dieron y de las ganas de verme crecer en todos los ámbitos.

Mi compañero de media carrera y ahora compañero de tesis Jesús Alí Malavé, gracias por el apoyo incondicional que sólo él sabe, ya que gran parte de esto se lo debo a él.

*Doriangel Amaya.*

## DEDICATORIA

A

Dios por siempre guiarme, nunca dejarme y colocar a las personas idóneas en mi camino, para enseñarme y ser una mejor persona. Por darme la fuerza y fortaleza de seguir adelante en todo momento y no rendirme a pesar de las piedras de tropiezo en el camino.

Mi abuela Luisa Hernández (+) y mi madre Juvenal Morales, por haberme criado con valores y principios, por siempre haber estado para apoyarme, guiarme y darme el mejor de los ánimos para seguir adelante, a ellas les debo este logro.

Mis hermanos, sobrinos y toda mi familia, por todo el amor que me tienen, ánimo, por siempre apoyarme y estar para mí en cada paso que di desde mi formación como persona y en mi formación profesional.

Mi amiga y hermana Doriangel Amaya, por todo su apoyo incondicional, lealtad y por ser mi compañera de lucha durante casi toda la carrera.

*Jesús Malavé.*

## AGRADECIMIENTO

A

Mi asesora, Profesora Luz Salazar por contribuir a mi formación académica y, además de eso, aceptarme para llevar a cabo esta tesis bajo su asesoría, muchas gracias por su tiempo y dedicación.

La licenciada Katiana Cedeño quien desde el primer día mostró un profundo interés en ayudarnos incondicionalmente en lo que fuese necesario y hacernos el recorrido más llevadero al momento de alcanzar los objetivos planteados en esta investigación.

Las profesoras que de una u otra forma dejaron huellas imborrables en mi formación académica, como la profesora Milagros Figueroa, Milagros Fariñas, Norig Girón y Yoleida Rodríguez (+).

De igual manera agradezco enormemente el apoyo de la Ing. Rosanny Palao quien desde el principio me instó a seguir adelante. Al licenciado Luis Adelino Márquez, licenciado Oscar Albornoz; a mis amigos de carrera Carmen Zorrilla, Carlos Ramos, Ramón Lemus, Luisanny Bastardo, Joseline Córdoba y Johannys Rojas quienes en muchos momentos me brindaron su mano amiga, cosa imposible de olvidar.

Además, agradezco a todas aquellas personas que siempre me aconsejaron y apoyaron para verme alcanzar el éxito, y lograr todas las metas que me proponga, enseñándome a ser firme en mis actitudes y perseverante en todo momento, demostrándome que la disciplina es el puente entre las metas y los logros y que a través de pasos pequeños se alcanzan metas muy grandes.

*Doriangel Amaya.*

## AGRADECIMIENTO

A

La Profesora Luz Salazar, por aceptar ser mi asesora y brindarme todo su conocimiento, paciencia, tiempo y apoyo durante la ejecución y defensa de mi tesis, para culminar con mi formación como profesional.

La Licenciada Katiana Cedeño y Elianny Pérez, por brindarme su apoyo incondicional en la ejecución del trabajo experimental, en las instalaciones del (INIA) gracias por su tiempo y dedicación.

Todos los profesores del departamento de Bioanálisis por brindarme sus conocimientos durante mi formación como profesional, en especial a las profesoras Yoleida Rodríguez (+), Norig Girón, Evis Parra, Milagros Fariñas, Yusulbeht Ponce, Milagros Figueroa y Zuleika Medina por sus palabras de aliento y ánimo en los momentos más rudos de la carrera.

Mis amigos Rosannys Palao, Yunesqui Bello, Victoria Zorrilla, Eumirys Pérez, Patricia Gonzales, Carlos Ramos, Ramon Lemus, Miguel Chacón y Alfredo flores por toda la paciencia, cariño y el apoyo incondicional durante mi formación personal y profesional.

Todas aquellas personas que estuvieron siempre con un consejo, una palabra de aliento, ánimo, cariño, que me ayudaron a ser una mejor persona y sobre todo a aquellos que creyeron que terminaría con éxitos la carrera, a todas esas personas gracias.

*Jesús Malavé.*

## LISTA DE TABLAS

	Pág.
1. Halos de inhibición promedio del extracto etanólico de la flor de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre los hongos filamentosos aislados de harina de maíz precocida para consumo humano.....	12
2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de la flor de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre los hongos filamentosos aislados de harina de maíz precocida para consumo humano.....	17



## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
1. Flor de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	8
2. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre el crecimiento de <i>Penicillium</i> sp.....	13
3. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre el crecimiento de <i>Fusarium moniliforme</i> .....	14
4. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre el crecimiento de <i>Aspergillus oryzae</i> .....	14
5. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre el crecimiento de <i>Mucor</i> sp.....	15
6. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre el crecimiento de <i>Aspergillus flavus</i> .....	15
7. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de <i>Syzygium aromaticum</i> sobre el crecimiento de <i>Aspergillus niger</i> . ....	16

## RESUMEN

Se evaluó la actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* contra especies de hongos filamentosos aislados de harina de maíz precocida para consumo humano, para lo cual se tomaron 10 muestras de harina de maíz precocida, las cuales se sometieron a diluciones seriadas con solución salina fisiológica y luego se sembraron por el método de difusión en agar, en placas que contenían agar Sabouraud dextrosa (ASD) para así lograr aislar e identificar los microorganismos fúngicos. Seguidamente, se prepararon suspensiones de conidios de los microorganismos aislados. Posteriormente, al extracto se le determinó la actividad antifúngica mediante el método de difusión en agar y concentración mínima inhibitoria (CMI). Los hongos filamentosos aislados de las 10 muestras de harina de maíz precocida fueron: *Penicillium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Mucor* sp., *Aspergillus flavus*, *A. oryzae* y *A. niger*. Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* se evidenció por la formación de halos de inhibición promedio, alrededor del disco impregnado con dicho extracto, dentro de estos resultados se observaron halos de inhibición promedio de 24,77 mm para *Penicillium* sp., 18,33 mm para *Fusarium moniliforme*, 16,20 mm para *A. oryzae*, 14,90 mm para *Mucor* sp., 12,77 mm para *A. flavus* y 8,87 mm para *A. niger*, respectivamente. La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 11,13 mg/ml para las especies *Penicillium* sp., y *Fusarium moniliforme*, 44,50 mg/ml para *A. oryzae*, *Mucor* sp., y *A. flavus* y 89,00 mg/ml para *A. niger*. En conclusión, se pudo evidenciar que el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* demostró tener propiedades antifúngicas contra los hongos filamentosos analizados.

## INTRODUCCIÓN

Los hongos constituyen un complejo grupo de organismos eucarióticos heterótrofos que se alimentan mediante la absorción directa de nutrientes, son capaces de colonizar diversos sustratos, manteniendo el equilibrio de los ecosistemas. Este grupo de organismos posee un núcleo y una membrana nuclear, un retículo endoplásmico, mitocondrias y un aparato secretor. Muchos son aerobios obligados o facultativos. Son quimiótrofos secretores de enzimas que degradan una amplia variedad de sustratos orgánicos en nutrientes solubles que luego son absorbidos pasivamente o integrados a la célula por transporte activo (Estrada y Ramírez, 2019; Villalva, 2021).

Los granos y cereales son ricos en proteínas, almidón, lípidos, celulosa y gluten. Dentro de los cereales, el maíz es el producto agrícola que se cultiva con mayor frecuencia en todo el mundo, debido a sus cualidades alimenticias para la producción de proteína animal y el suministro de elementos nutritivos para los seres humanos; además, es materia prima básica en la industria, ya que de él se obtiene la harina de maíz precocida para consumo humano. Esta es considerada una de las principales fuentes de alimentación para la población a nivel mundial. En Venezuela, la harina de maíz precocida es la base en la preparación de alimentos como arepas, empanadas, atoles, entre otros. La presencia de diferentes especies fúngicas en los granos de maíz puede presentarse en cualquier punto de la cadena de producción (cosecha, recolección, almacenaje, transporte, elaboración y conservación); las condiciones adecuadas para la proliferación de hongos micotoxigénicos se atribuye a factores como una humedad mayor de 14,0 % en grano, una temperatura mayor de 20 °C, una humedad relativa en almacén de 70,0 a 90,0%, aunado al manejo inadecuado poscosecha, el tipo de transporte y el almacenamiento prolongado (COVENIN, 1996; Barroyeta *et al.*, 2013; Arellano, 2019).

La micoflora de las harinas de maíz precocidas elaboradas con materia prima contaminada con hongos está constituida principalmente por los géneros *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Eurotium*, *Fusarium* y *Penicillium*, pertenecientes a las divisiones *Ascomycota* y *Zygomycota*.

Bonivento *et al.*, (2008) evaluaron la micoflora en muestras de granos de maíz encontrando que las especies predominantes de dicho cereal fueron *Aspergillus candidus*, *Aspergillus flaviceps*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus*, *Cladosporium sp.*, *Curvularia lunata*, *Eurotium cheveti*, *Fusarium oxysporum* y *Penicillium citrinum*. La alta frecuencia de estos microorganismos en los alimentos elaborados a base de maíz y su capacidad para producir micotoxinas presentan un peligro potencial para la salud del hombre, así como una fuerte pérdida económica Badaraco *et al.* (2020).

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de ciertos hongos que pueden desarrollarse en ciertos productos alimenticios antes, durante o después de la cosecha, o durante el almacenamiento y transporte de los mismos, estos se originan como respuesta al estrés oxidativo durante la colonización por hongos, resultando ser tóxicos y potencialmente dañinos para humanos y animales. Estas especies necesitan condiciones ecofisiológicas especiales, como temperatura y humedad, para crecer y sintetizar estos metabolitos. Algunos productos susceptibles son las semillas oleaginosas como los cacahuates y las almendras, especias, frutas, cereales como el trigo, el maíz y sus derivados como las harinas. En la actualidad, se han identificado más de 300 micotoxinas. Las principales especies micotoxigénicas pertenecen a los géneros *Fusarium*, *Claviceps*, *Alternaria*, *Aspergillus* y *Penicillium* (Marín *et al.*, 2018; Arellano, 2019; Suscaý *et al.*, 2020; Pallarés *et al.*, 2022).

En 2000 Mazzani *et al.*, realizaron un estudio donde evaluaron veinte híbridos experimentales y comerciales de maíz blanco y amarillo en el Sombrero estado Guárico, con el fin de estudiar la incidencia de *Fusarium spp.* y *Aspergillus spp.*, encontraron que

la incidencia de *Fusarium moniliforme* fue intermedia en 15 muestras y alta en los restantes; no encontraron diferencias significativas entre híbridos de maíz para el contenido de *Fusarium spp.* y, el rango de contaminación entre híbridos fue estrecho, aunque todos resultaron contaminados, los contenidos de *Fusarium spp.* fueron bajos.

En Latinoamérica existe condiciones climáticas que favorecen el crecimiento de mohos toxigénicos en los cultivos de maíz, siendo Venezuela una de las principales regiones tropicales más afectadas. Esto se ha demostrado mediante estudios realizados, en los cuales se evidencia la contaminación con mohos y micotoxinas en granos de maíz cosechados y almacenados en distintos estados del país, lo que ha permitido demostrar que la presencia de las especies fúngicas toxigénicas de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* en los granos de maíz, pueden llegar a afectar el rendimiento del cultivo, así como también, interferir en la calidad del producto final (harina de maíz precocida), especialmente por la contaminación con las micotoxinas y sus efectos mutagénicos, teratogénicos y carcinogénicos. *Aspergillus flavus* es una de las principales especies que afectan al maíz, debido a que es productor de aflatoxinas, micotoxina que es altamente tóxica capaz de provocar intoxicación aguda e incluso la muerte (Chavarri y Freites, 2018).

La presencia de estos microorganismos patógenos en los cultivos agrícolas induce a generar nuevas alternativas de control y eliminación mediante la aplicación de sustancias naturales como los aceites esenciales. Los aceites esenciales de especies aromáticas son extractos naturales de base lipídica que se encuentran en casi todas las plantas, estos presentan una bioactividad alta, además poseen propiedades antifúngicas, antibacterianas, insecticidas, nematocidas, herbicidas, antioxidantes y antiinflamatorias. Los aceites esenciales tienen diversas aplicaciones industriales, en áreas como: farmacéutica, perfumes y alimentos. Se estima que hay más de 250.000 especies de plantas en la tierra, las cuales contienen grandes depósitos de compuestos químicos parcialmente explotados y que son importantes para la elaboración de productos naturales que benefician a la industria; los cuales son extraídos de diferentes partes de la

planta como: hojas, raíces, tallos y flores. Los aceites esenciales son componentes heterogéneos de terpenos, sesquiterpenos, ácidos, ésteres, fenoles, lactonas; que son separables por métodos físicos o químicos (Zaker, 2016; Flores y Mojica, 2019; Raveau *et al.*, 2020).

La actividad de los aceites esenciales puede darse mediante varios mecanismos de acción, dentro de estos se destaca la disrupción de la membrana por los componentes lipofílicos, los cuales son en su mayoría terpenos y terpenoides, estos pasan a través de la pared celular y las membranas citoplasmáticas, interrumpiendo sus estructuras y permeabilizándolas. Esta permeabilización da origen a una cascada de reacciones en la célula resultando en la pérdida de macromoléculas, iones y reducción del potencial de membrana, colapso de las bombas protónicas y depleción de ATP lo que trae como consecuencia la muerte celular. El mecanismo de acción de la actividad antifúngica se puede dar mediante la lesión de la membrana citoplasmática por la interrupción de la biosíntesis del ergosterol, responsable de la integridad celular y el mantenimiento de las funciones vitales (Jaramillo, 2020).

*Syzygium aromaticum*, pertenece a la familia *Mirtaceae* y es una de las especias más antiguas y cotizadas, procedente de Oriente, se le atribuyen propiedades culinarias y medicinales. El compuesto más abundante y el responsable de su aroma es el eugenol. Este compuesto ha demostrado poseer actividad hepatoprotectora, vasorelajadora y anestésico local en estudios *in vivo*. Además, es rico en compuestos polifenólicos, principalmente, ácidos fenólicos como ácido gálico, cafeico, ferúlico, elágico y en menor concentración, flavonoides como kaempferol, quercetina y sus derivados glucosidados. Esta especie es de fácil localización y gran comercialización debido a sus propiedades antifúngicas, antisépticas, antivirales, anestésicas, analgésicas y bactericidas, atribuyendo estas propiedades al componente eugenol, el cual representa entre el 72,0 a 90,0% del aceite esencial extraído principalmente del botón seco de la flor de clavo de olor (Torres *et al.*, 2018; Acedo *et al.*, 2020).

Los fungicidas de composición química son la primera elección para el control de hongos en el campo agrícola, por lo cual estos compuestos químicos no dejan de causar un impacto negativo a nivel ambiental. En la actualidad, debido a la elevada incidencia de infecciones fúngicas es necesario el monitoreo de los mohos y micotoxinas en las principales zonas productoras de harina de maíz, ya que este es un producto de consumo masivo, y si está contaminado podría ocasionar efectos nocivos sobre la salud humana y animal. También, se debe buscar el desarrollo de nuevas estrategias que permitan el uso de fungicidas a partir de extractos y aceites esenciales obtenidos de especies vegetales, y evaluarlos en estudios *in vitro* contra hongos fitopatógenos como un paso inicial al desarrollo de las alternativas tecnológicas prometedoras en el uso de bioproductos disponibles a partir de plantas. Estos potenciales productos serían un método de bajo costo y ecológicamente factibles para la protección de los cultivos agrícolas, comparados con los fungicidas que existen en el mercado, lo que permitiría sustituir con éxito a los agroquímicos; es por ello, que el objetivo de la presente investigación es evaluar la actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* contra hongos filamentosos aislados de harina de maíz precocida para consumo humano.

## METODOLOGÍA

### **Muestra**

Se recolectaron diez muestras (10) de harina de maíz precocida presentadas en empaques de plásticos de 1 kg como lo indica la norma COVENIN N°2135: 1996.

### **Procesamiento de las muestras**

Se aplicó el método de diluciones seriadas descrito por García (1990) y Pascual y Calderón (2000). Para lo cual se pesaron 10 g de cada muestra y fueron añadidas por separado en matraces estériles de 250 ml de capacidad, a los cuales se le agregaron 90 ml de solución salina fisiológica (SSF). Las muestras preparadas se colocaron en un agitador mecánico (Shaker) marca LAB-LINE durante 20 minutos con el propósito de permitir el desprendimiento de los microorganismos presentes en las muestras en estudio (dilución  $10^{-1}$ ).

Se tomó 1 ml de la dilución antes mencionada y se colocó en un tubo que contenía 9 ml de SSF (dilución  $10^{-2}$ ), seguidamente se mezcló muy bien, luego se trasvasó 1 ml de dicha dilución a otro tubo que contenía 9 ml de SSF (dilución  $10^{-3}$ ). Este procedimiento se repitió hasta alcanzar la dilución  $10^{-5}$ . Posteriormente, se colocó por triplicado 0,1 ml de cada dilución en placas de Petri con 20 ml de agar Sabouraud dextrosa (ASD) (Himedia Laboratories Limited, India). La siembra se llevó a cabo por el método de agotamiento de superficie utilizando un asa de Digralski. Seguidamente, las placas fueron rotuladas de acuerdo al número de la dilución correspondiente y se incubaron durante un lapso de tiempo de 5 a 7 días a una temperatura de 28 a 30 °C.

### **Aislamiento de los hongos filamentosos**

Se escogieron a partir de las placas sembradas, colonias con características morfológicas diferentes y se sembraron en tubos que contenían 3 ml de agar Sabouraud dextrosa



(ASD) (Himedia Laboratories Limited, India) dispuestos en bisel y se incubaron durante 5 a 7 días a una temperatura de 28 a 30 °C (Arenas, 2011).

### **Identificación de los hongos aislados**

Características macroscópicas: La identificación de los hongos filamentosos se realizó mediante el estudio macroscópico de las colonias como: aspecto, color, forma, difusión de pigmentos, superficie, color de superficie, reverso, consistencia, textura y tamaño.

Características microscópicas: la identificación de los hongos filamentosos aislados se evaluaron mediante el estudio de las características microscópicas tales como: tipo de micelio, conidióforos, esterigmas, conidios (forma, tabicamiento, color, diámetro, paredes y agrupación de los conidios) esporangióforas, esporangios, esporangiosporas, columenas, rizoides mediante la técnica de microcultivo de Ridell (1950), que consiste en colocar en el fondo de una placa de Petri un trozo de papel absorbente y sobre este se colocará una varilla de vidrio en forma de “U”. Seguidamente, se colocó sobre la varilla de vidrio una lámina portaobjeto y una laminilla cubreobjeto, para su esterilización en la autoclave durante 15 minutos a 15 libras de presión y se secó posteriormente en la estufa. Luego de ello, se procedió a preparar una placa de Petri con medio de cultivo agar Sabouraud dextrosa (ASD), el cual debe poseer 5 mm de espesor, a continuación, el medio de cultivo fue cortado con un bisturí estéril el medio, en cuadrados de 10 mm de lado y se colocaron en el centro de la lámina portaobjetos, a la cual se le inoculó con un asa bacteriológica las colonias en estudio en los 4 puntos de los bordes del agar y se cubrió con una laminilla cubreobjeto sobre el medio inoculado. Luego, se añadió agua destilada estéril en el papel absorbente cuidando de no mojar el medio y se incubaron las placas de Petri durante 7 a 10 días a una temperatura de 28 °C. Una vez alcanzado el crecimiento fúngico se procedió a realizar la coloración, retirando con una pinza la lámina cubreobjeto y se colocó sobre la lámina portaobjeto con 1 o 2 gotas de azul de lactofenol, para su observación al microscopio con objetivo de bajo aumento (10X) y luego con el objetivo de mayor aumento (40X) (Arenas, 2011).

### Material vegetal

La flor del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) fue adquirida en el mercado municipal de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, esta fue llevada al Laboratorio de Microbiología del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA).



Figura 1. Flor de *Syzygium aromaticum*

### Extracción etanólica

Se trituró en un mortero de cerámica el material vegetal, para así obtener un fino polvo con el cual se preparó el extracto, usando como solvente etanol al 80,00% (marca Riedel de Haen). El extracto se obtuvo siguiendo la metodología de Bluma *et al.* (2008). Se mezclaron 3 g de polvo del fruto seco con 20 ml de etanol al 80,00%, ésta mezcla se dejó en reposo durante 48 horas a temperatura ambiente y en oscuridad. Seguidamente, el extracto obtenido se filtró con papel de filtro Whatman N°1 y fue vertido en placas de Petri, las cuales fueron previamente pesadas; posteriormente, las placas que contenían el extracto fueron guardadas en oscuridad hasta que se evaporó completamente el etanol. Se determinó el peso seco del extracto, para lo cual se le restó el peso de la placa de Petri con la del extracto seco menos el peso de la placa de Petri sin el mismo. Finalmente, el extracto obtenido se resuspendió en una proporción 1:1 (1 g del extracto etanólico en 1 ml de agua destilada estéril). Por último, el extracto fue colocado en

viales y guardado en refrigeración. Cada vial se mezcló profusamente al momento de usarlo. La concentración del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* fue de 178 mg/ml.

### **Cepas fúngicas**

Se emplearon las diferentes cepas de hongos filamentosos aislados de las muestras de harina de maíz precocida para consumo humano.

### **Suspensión de conidios**

La suspensión de conidios se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Rasooli *et al.* (2008), para ello, las cepas aisladas fueron cultivadas en tubos de ensayo con agar Sabouraud dextrosa (ASD) (Himedia Laboratories Limited, India) a 28°C durante 10 días. Posteriormente, se prepararon la suspensión de conidios, para lo cual a cada tubo de ensayo se le agregaron 10 ml de solución salina fisiológica (SSF) y se agitó vigorosamente con la finalidad de facilitar el desprendimiento de los conidios. La suspensión que se obtuvo en cada tubo se filtró por separado a través de una doble gasa estéril, para así eliminar otras estructuras fúngicas y obtener sólo conidios en la suspensión. Finalmente, utilizando una cámara de Neubauer se ajustó la concentración de conidios a  $10^6$  conidios/ml.

### **Evaluación de la actividad antifúngica por el Método de Difusión en Agar**

La actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* fue determinada de acuerdo a la metodología descrita por De Souza *et al.* (2005). Se utilizaron placas de Petri con agar Sabouraud dextrosa (ASD), en estas fueron diseminados uniformemente 100 µl de la suspensión de conidios de cada cepa por separado, utilizando un asa de Digralski. Seguidamente, se impregnaron discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro con el extracto y se colocaron en el medio de las placas de Petri con ASD previamente inoculadas con la suspensión de conidios. Se contó con un control de crecimiento con placas inoculadas con 100 µl de la suspensión de

conidios, sin el extracto. Las placas fueron incubadas por tres días a una temperatura de 25°C y se evaluaron cada 24 horas. Los halos de inhibición fueron medidos usando una regla graduada y sus diámetros fueron expresados en milímetros. El procedimiento se realizó por triplicado.

### **Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)**

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se realizó siguiendo la metodología descrita por Rasooli y Mirmostafa (2003) y Rasooli *et al.* (2008). Para ello, se realizaron diluciones seriadas (1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32) a partir de la mezcla de 100 µl del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* en los micropozos de una placa que contenía 100 µl de caldo Sabouraud dextrosa y 50 µl de la suspensión de conidios, de cada una de las cepas aisladas. Se emplearon pozos controles que contenían sólo la mezcla de caldo y la suspensión de conidios y sólo el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticums* (clavo de olor). Las placas se incubaron a 28°C durante 48 horas. La concentración mínima inhibitoria se obtuvo del micropozo con la dilución que no mostró crecimiento fúngico. La lectura se realizó de forma visual.

### **Análisis de datos**

Los resultados obtenidos en la investigación se presentaron mediante estadística descriptiva, a través de tablas y figuras, para comparar la actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* (clavo de olor) sobre las diferentes cepas aisladas de la harina de maíz precocida para consumo humano.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los microorganismos aislados de las diez (10) muestras de harina de maíz precocida para consumo humano fueron *Penicillium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Mucor* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus orizae* y *Aspergillus niger*.

Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos por Elham y Modhi (2015), quienes evaluaron 200 muestras de grano de maíz, donde encontraron la presencia de géneros como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Fusarium*, formando parte de la micoflora del maíz. Así mismo, Lumi *et al.* (2015), en su estudio aislaron hongos filamentosos a partir de granos de maíz con la finalidad de evaluar la actividad enzimática de los mismos, donde se evidenció el crecimiento fúngico de los géneros *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor* y *Aspergillus*. Por otro lado, Arispe *et al.* (2019) en su estudio de identificación morfofisiológica de hongos en genotipos de maíz, evidenciaron la presencia de hongos micotoxigénicos como *Aspergillus*, *Fusarium*, y *Penicillium*, siendo estos los principales géneros toxicogénicos y de amplia distribución geográfica.

Al evaluar la actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* mediante el método de difusión en agar sobre el crecimiento de las especies aisladas en las 10 muestras analizadas, se pudo observar que produjo inhibición de crecimiento con halos alrededor del disco en todas las especies fúngicas evaluadas. La mayor actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* se observó sobre el crecimiento de *Penicillium* sp. al producir halos de inhibición mayores en comparación con las otras especies fúngicas.

En la tabla 1 se muestra los valores promedios de los halos de inhibición el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* contra los hongos filamentosos aislados de harina de maíz precocida para consumo humano.

Tabla 1. Halos de inhibición promedio del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre los hongos filamentosos aislados de harina de maíz precocida para consumo humano.

Extracto	Microorganismos	Halos de inhibición promedio (mm)
<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	24,77
	<i>Fusarium moniliforme</i>	18,33
	<i>Aspergillus oryzae</i>	16,20
	<i>Mucor</i> sp.	14,90
	<i>Aspergillus flavus</i>	12,77
	<i>Aspergillus niger</i>	8,87

Rana *et al.* (2011) estudiaron la actividad antifúngica de *Syzygium aromaticum* contra algunos patógenos fúngicos comunes de plantas y animales, tales como: *Fusarium moniliforme*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus* sp., *Mucor* sp., *Trichophyton rubrum* y *Microsporum* sp probaron que el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* posee un elevado efecto antifúngico para todas las especies estudiadas, obteniendo halos de inhibición que oscilaron entre 12,00 y 22,00 mm. Valdés *et al.* (2016) evaluaron la actividad antifúngica del aceite esencial de *Syzygium aromaticum* puro y disuelto en etanol al 70,00 % a diferentes concentraciones, frente a tres cepas fúngicas aisladas de documentos en biodeterioro, encontraron que el extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* presentó una elevada actividad fungicida a diferentes concentraciones presentando halos de inhibición de 14,00 a 24,00 mm para *Aspergillus niger*, de 20,00 a 23,00 mm para *Aspergillus flavus* y de 15,00 a 21,00 mm para *Penicillium aurantiogriseum*. Martínez (2018) evaluó la actividad antifúngica de los aceites de *Melissa officinalis* (Toronjil) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) contra *Aspergillus flavus*, obteniendo halos de inhibición de 4,60 mm para el extracto de toronjil y 3,60 mm para romero.

Por otra parte, Ocque (2018), comprobó la actividad antifúngica de *Syzygium aromaticum* contra hongos filamentosos; obteniendo halos de inhibición promedio de 18,10 mm para *Nigrospora* sp, 17,30 mm para *Fusarium* sp., y 15,70 mm para *Curvularia* sp. Así mismo, Acedo *et al.* (2020) evaluaron la actividad antifúngica de

*Syzygium aromaticum* a diferentes concentraciones contra el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*, obteniendo halos de inhibición a concentraciones de 1,00% y 3,00% que oscilan entre 26,00 a 11,00 mm, respectivamente, además el extracto en estudio, a una concentración de 5,00%, inhibió completamente a la especie fúngica evaluada. Badaraco *et al.* (2020), menciona que los hongos pueden generar problemas económicos, productivos y alterar la calidad y sanidad alimentaria. Al obtener estos resultados con el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* se puede inferir que esta especie es fuente de compuesto bioactivos con actividad antifúngica.

Las figuras 2, 3, 4, 5, 6 y 7 ilustran los halos de inhibición producidos por la acción del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre las especies aisladas, donde se puede apreciar que el extracto en estudio presentó actividad antifúngica sobre el crecimiento en todas las especies analizadas.

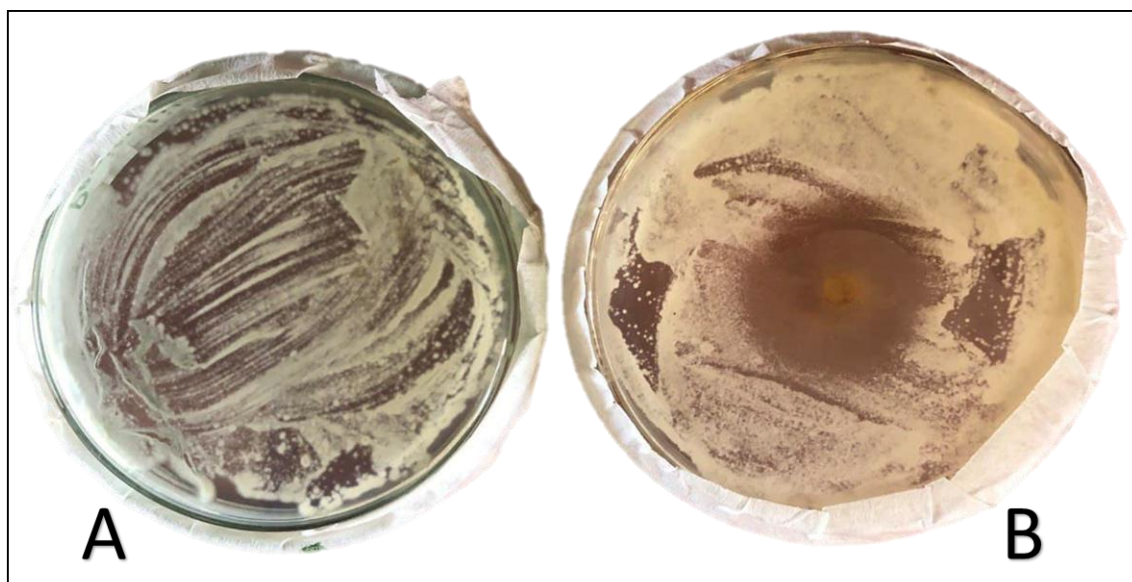


Figura 2. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el crecimiento de *Penicillium* sp. A: control de crecimiento: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Penicillium* sp. B: efecto antifúngico del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el microorganismo inoculado: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Penicillium* sp. + disco impregnado con el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum*.

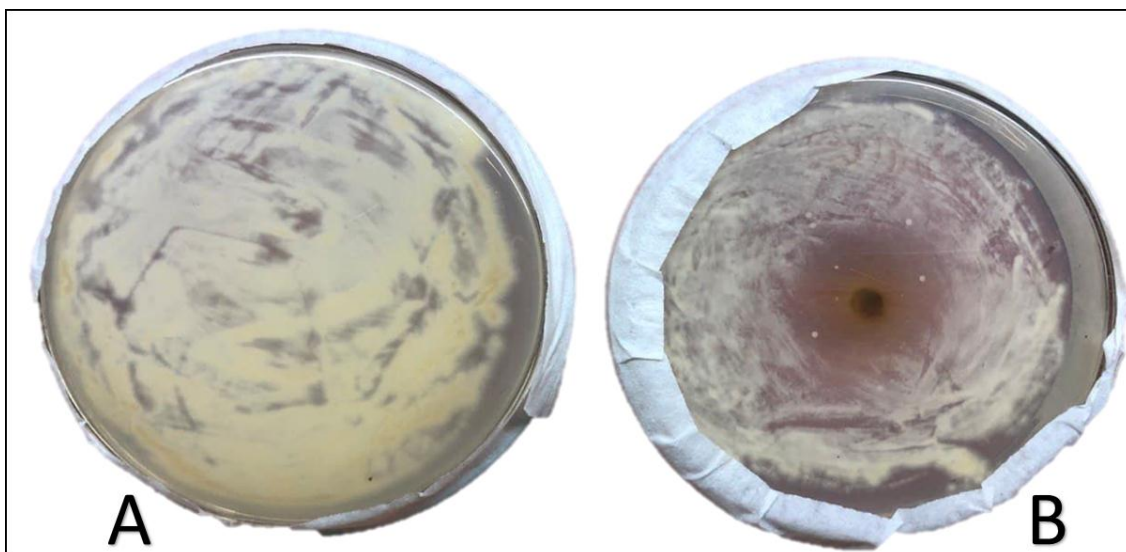


Figura 3. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el crecimiento de *Fusarium moniliforme*. A: control de crecimiento: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Fusarium moniliforme*. B: efecto antifúngico del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el microorganismo inoculado: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Fusarium moniliforme* + disco impregnado con el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum*.

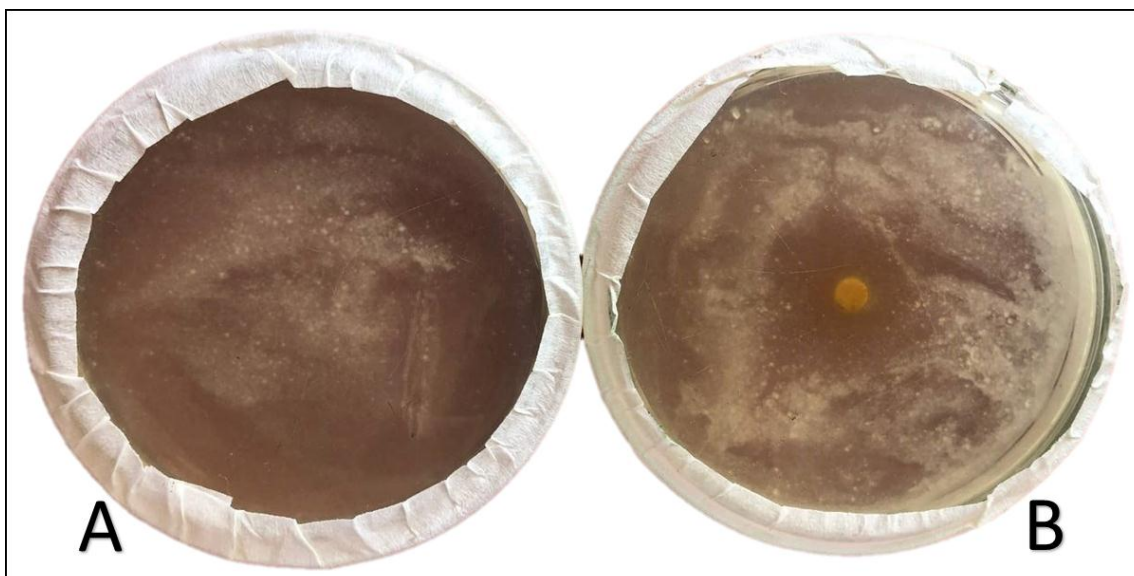


Figura 4. Actividad antifúngica del extracto etanólico la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el crecimiento de *Aspergillus oryzae*. A: control de crecimiento: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Aspergillus oryzae*. B: efecto antifúngico del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el microorganismo inoculado: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Aspergillus oryzae* + disco impregnado con el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum*.





Figura 5. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el crecimiento de *Mucor* sp. A: control de crecimiento: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Mucor* sp. B: efecto antifúngico del extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* sobre el microorganismo inoculado: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Mucor* sp. + disco impregnado con el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum*.

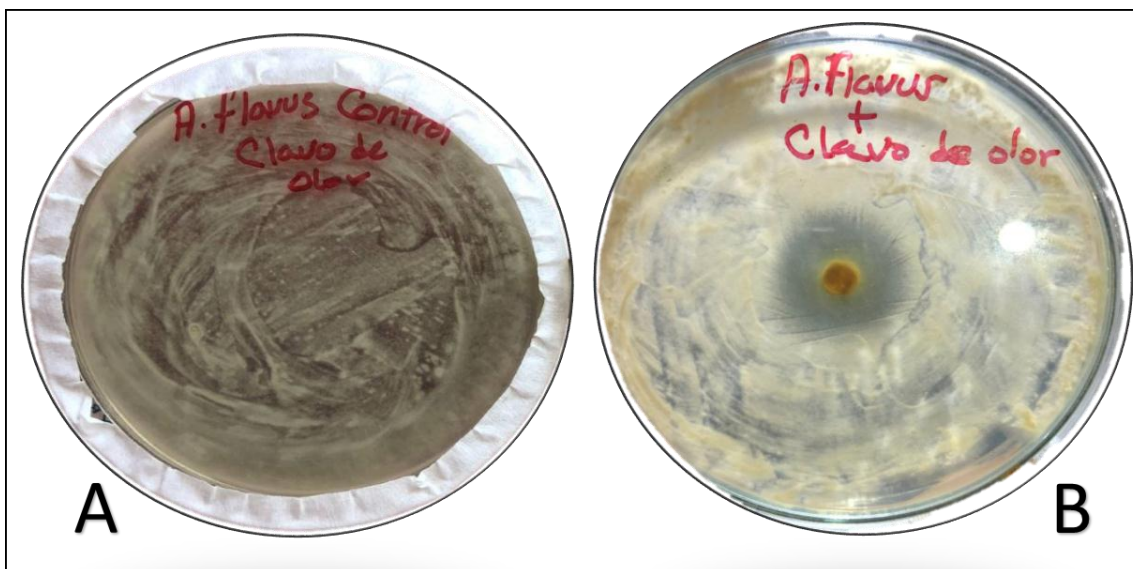


Figura 6. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus*. A: control de crecimiento: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Aspergillus flavus*. B: efecto antifúngico del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el microorganismo inoculado: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Aspergillus flavus* + disco impregnado con el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum*.

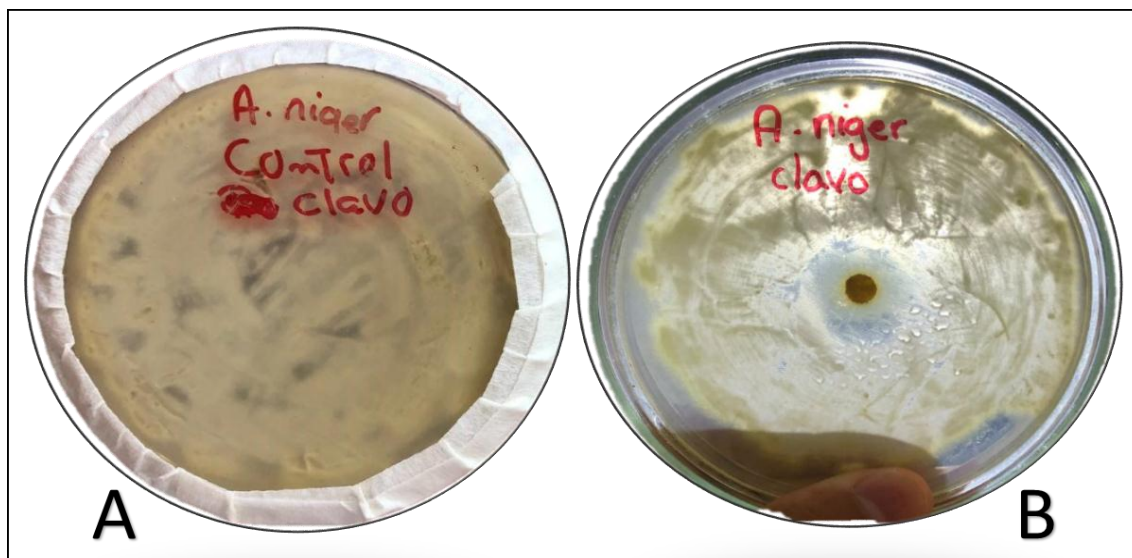


Figura 7. Actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el crecimiento de *Aspergillus niger*. A: control de crecimiento: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Aspergillus niger*. B: efecto antifúngico del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre el microorganismo inoculado: Agar Sabouraud dextrosa (ASD) inoculado con *Aspergillus niger* + disco impregnado con el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum*.

En la tabla 2 se observa los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre los microorganismos aislados. El extracto en estudio inhibió el crecimiento de *Penicillium* sp. y *Fusarium moniliforme*, a una concentración de 11,13 mg/ml, mientras que para *Aspergillus oryzae*, *Mucor* sp, y *Aspergillus flavus* la concentración mínima inhibitoria fue de 44,50 mg/ml y para *Aspergillus niger* fue de 89,00 mg/ml. La mayor actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* se observó sobre las especies *Penicillium* sp, y *Fusarium moniliforme*, estos resultados permiten inferir que *Penicillium* sp. y *Fusarium moniliforme* presentaron una mayor actividad al efecto del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum*, debido a que se requirió una menor concentración del mismo en comparación con las demás especies estudiadas.

Tabla 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* sobre los hongos filamentosos aislados de harina de maíz precocida para consumo humano.

Extracto	Microorganismos	Concentración mínima inhibitoria (mg/ml)				
		89,00	44,50	22,25	11,13	5,56
<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Penicillium</i> sp.	-	-	-	-	+
	<i>Fusarium moniliforme</i>	-	-	-	-	+
	<i>Aspergillus oryzae</i>	-	-	+	+	+
	<i>Mucor</i> sp.	-	-	+	+	+
	<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	+	+	+
	<i>Aspergillus niger</i>	-	+	+	+	+

(-): No hubo crecimiento, (+): Hubo crecimiento.

Sharma *et al.* (2017) al realizar ensayos con los aceites esenciales de clavo de olor, limoncillo, menta y eucalipto contra *Fusarium oxysporum* obtuvieron que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite de clavo de olor fue de 31,25 ppm, siendo este el más eficaz en comparación con los demás extractos estudiados. Así mismo, Hu *et al.* (2019) evaluaron la actividad antifúngica de los aceites esenciales de *Cinnamomum verum* y *Syzygium aromaticum* contra *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* y *Aspergillus ochraceus*, encontrando que el estudio *in vitro* inhibió por completo el crecimiento micelial de las tres especies en estudio a una concentración de 10,24 mg/ml. Por otra parte, Uguña (2019) demostró que el aceite esencial de clavo de olor presentó un porcentaje de inhibición del crecimiento del hongo entre un 61,00 y 76,00% sobre *Aspergillus flavus*. Galarza y Quimi (2020) demostraron que el aceite esencial de canela mostró concentración mínima inhibitoria para *Penicillium expansum* de 0.0918 y 0.102 mg/ml, respectivamente.

La actividad antifúngica de los aceites esenciales se encuentra relacionada con la proporción de compuestos fitoquímicos, los cuales son metabolitos secundarios sintetizados de manera natural por las plantas, a los mismos se le atribuye el efecto inhibitorio del crecimiento fúngico. Dentro de estos compuestos se encuentran: fenoles, alcoholes, aldehídos, cetonas, éteres e hidrocarburos; siendo los fenoles los que poseen mayor actividad antifúngica; estas moléculas hidrófobas se encuentran presentes en los

aceites esenciales de canela, clavo de olor, lavanda, orégano y tomillo. La proporción de estos compuestos depende del quimiotipo, edad de la planta, condiciones climáticas, ambientales, tiempo de cosecha y método de extracción. Su actividad citotóxica se debe a que los compuestos antes mencionados afectan la pared y membrana celular de los hongos permitiendo ingresar hacia el interior, causar una alteración en su citoplasma y dañar sus organelos. Los aceites esenciales poseen ciertas características como hidrofobicidad y lipofilidad las cuales son capaces de modificar la permeabilidad de la membrana celular resultando en una modificación del flujo de protones, pH y presión osmótica intracelular, esto provoca la destrucción de organelos como las mitocondrias las cuales pierden las moléculas de ATP, lo que conlleva a la disminución de energía disponible y produce la muerte celular. Prakash *et al.* (2015) determinaron que el compuesto fenólico (eugenol) presente en el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* provoca desequilibrio del agua, el agotamiento de la concentración de ATP intracelular y, finalmente, muerte celular (Basak y Guha, 2018; Jaramillo, 2020; Rojas, 2022).

Las plantas tienen la capacidad de sintetizar una gran diversidad de metabolitos secundarios relacionados con diferentes mecanismos de defensa, entre los que se encuentran compuestos químicos como terpenos, fenoles, compuestos nitrogenados como alcaloides y compuestos azufrados, muchos de estos con propiedades antimicrobianas. Estos metabolitos tienen una función importante en la protección ante depredadores, microorganismos patógenos y herbívoros. Así mismo, compuestos de tipo fenólico como las cumarinas, ligninas, flavonoides y taninos actúan modificando los tejidos o pared celular, proporcionando dureza o rigidez a los mismos (Mesa *et al.* 2019).

Por otra parte, un estudio realizado por Zaker (2016) menciona que para obtener aceites esenciales de composición constante hay que tener en cuenta que existen algunas condiciones que determinan su eficacia, ya que la concentración de una sustancia química en diferentes partes de una planta, como raíces, hojas, flores y frutos puede tener una variabilidad en la calidad y cantidad de metabolitos, de modo que puede diferir

e incluso estar ausente en una o más partes de dicha planta, por lo que es conveniente recolectar muestras integrales. En concordancia, Llorens (2021) en su estudio sobre los aceites esenciales y su actividad biológica hace referencia a la variabilidad que puede presentar la composición química de estos, como por ejemplo factores abióticos, los cuales se encuentran relacionados con la temperatura, precipitación, luz, naturaleza del suelo, pH, salinidad, etc, los cuales pudieran afectar la fisiología de las plantas trayendo como consecuencias cambios muy notorios entre la fase de crecimiento vegetativo y el período de floración, dando como resultado modificaciones en las propiedades de las plantas y por ende en los distintos aceites esenciales extraídos de estas.

La actividad antifúngica de los aceites esenciales extraídos de las plantas, está determinada por los diferentes metabolitos que se encuentran presente en estos. De acuerdo con lo antes mencionado, Diáñez *et al.* (2018), analizaron las propiedades antifúngicas de 12 extractos vegetales, de la familia *Lamiaceae* los cuales fueron: *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* y *Thymus mastichina*, teniendo como componente principal al eucaliptol; y de la familia *Myrtaceae* al *Syzygium aromaticum* y *Eucalyptus globulus* compuestos principalmente de eugenol y eucaliptol, encontrando que los extractos actúan sobre las membranas celulares por un mecanismo que se encarga de detener la biosíntesis del ergosterol lo cual interfiere con la morfología de las hifas y funcionamiento de la membrana celular. De igual manera, Ajila (2019) afirma que la acción antifúngica del extracto de *Syzygium aromaticum* está relacionada con diversos componentes del mismo, posiblemente se debe a que presenta un elevado porcentaje de eugenol de un 70,00 a 95,00%, el cual es el principal componente y es al que se le atribuye el principio activo del extracto. Por otra parte, Saroj *et al.* (2020) concuerda que el eugenol encontrado en el aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, ejerce más de un mecanismo contra hongos a nivel celular, los cuales incluyen la rotura de la pared celular, el adelgazamiento y rompimiento de la membrana citoplasmática, fuga de materiales intracelulares, coagulación del citoplasma y cambios morfológicos.

La acción antifúngica de los aceites esenciales, promete ser una alternativa moderna, la cual permitiría sustituir con éxito el uso de agroquímicos, los cuales son tóxicos al medio ambiente y para la salud de los seres vivos, es por ello, que se pretende emplear el uso de aceites esenciales como fungicidas ecológicos, debido a que presentan bajo nivel de toxicidad y se caracterizan por ser biodegradables, de fácil obtención y bajo costo. En esta investigación se pudo evidenciar que el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* cumplió con su acción inhibitoria contra los hongos filamentosos aislados en harina de maíz precocida para consumo humano, lo que hace presumir que el extracto de *Syzygium aromaticum* pudiera ser utilizado como un descontaminante biológico eficaz.

## CONCLUSIONES

Las especies de hongos filamentosos aisladas de la harina de maíz precocida fueron *Penicillium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Mucor* sp., *Aspergillus flavus*, *Aspergillus oryzae* y *Aspergillus niger*.

El extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* mostró una actividad antifúngica a diferentes concentraciones contra las especies evaluadas, mostrando halos de inhibición promedio de 24,77 mm para *Penicillium* sp., 18,33 mm para *Fususarium moniliforme*, 16,20 mm para *Aspergillus oryzae*, 15,90 mm para *Mucor* sp., 12,77 mm para *Aspergillus flavus* y 8,87 mm para *Aspergillus niger*, respectivamente.

La concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* fue de 11,13 mg/ml para *Penicillium* sp., y *Fususarium moniliforme*, 44,50 mg/ml para *Aspergillus oryzae*, *Mucor* sp., y *Aspergillus flavus* y de 89,00 mg/ml para *Aspergillus niger*.

## **RECOMENDACIONES**

Evaluar la actividad antifúngica de otros extractos naturales sobre hongos aislados de harina de maíz precocida para consumo humano.

Realizar técnicas cromatográficas para obtener los componentes de los extractos, para así evaluar la actividad antifúngica de cada uno de los componentes.

Emplear técnicas de microscopia electrónica para evaluar a nivel celular la acción antifúngica de los extractos naturales.

Estudiar la actividad antifúngica de los componentes volátiles de los extractos naturales.



## BIBLIOGRAFÍA

- Acedo, V.; Arana, D. y Condo, A. 2020. Actividad antifúngica *in vitro* de diferentes concentraciones de *Syzygium aromaticum* “clavo de olor” contra *Fusarium oxysporum*. *Revista de Investigación de Agroproducción Sustentable*, 4(1): 35-42.
- Ajila, C. 2019. Aplicación de anestésico artesanal de aceite de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) en vieja azul (*Andinoacara rivulatus*). Trabajo de Grado. Unidad Académica De Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Machala, Ecuador.
- Arellano, L. 2019. Detección de hongos e identificación de micotoxinas en granos de maíz almacenados. Tesis de Maestría. Institución de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. México.
- Arenas, R. 2011. *Micología Médica Ilustrada*. Interamericana McGraw-Hill. Ciudad de México.
- Arispe, J.; Sánchez, A.; Galindo, M.; Vázquez, M.; Oyervides, A. y Rodríguez R. 2019. Identificación morfofisiológica de hongos en genotipos de maíz. *Revista de Agronomía*. 2(34): 11-16.
- Badaracco, P.; Sortino, M. y Pioli, R. 2020. ESTUDIO DE COMPUESTOS VEGETALES CON POTENCIAL ACCIÓN ANTIFÚNGICA SOBRE PATÓGENOS DE PLANTAS CULTIVADAS. *Revista chilena de ciencias agrícolas y animales*, 36(3), 244-252.
- Barroyeta, J.; Chavarri, M.; Rumbos, N.; Garrido, J. y Mazzani, C. 2013. Micobiota toxigénica y aflatoxinas en granos de maíz blanco provenientes de los Estados Yaracuy y Guárico, Venezuela. *Fitopatología Venezolana*, 26(1): 2-3.
- Basak, S. y Guha, P. 2018. A review on antifungal activity and mode of action of essential oils and their delivery as nano-sized oil droplets in food system. *Journal of Food Science and Technology*, 55(12): 4701.
- Bluma, R.; Amaiden, M. y Etcheverry, M. 2008. Screening of Argentine plant extracts: impact on growth parameters and aflatoxin B1 accumulation by *Aspergillus section flavi*. *International Journal of Food Microbiology*, 122: 144-125
- Bonivento, J.; Montenegro, L. y Trespalacios, E. 2008. Determinación de la micoflora de “*Zea mays*” en almacenamiento, presencia de aflatoxinas y evaluación del grado de sensibilidad de los microorganismos aislados frente a los extractos de la corteza de canela “*Cinnamomum zeylanicum*” y capullos de clavo de olor “*Syzygium aromaticum*”. Trabajo de pregrado. Facultad de Educación y Ciencias. Universidad de Sucre. Colombia.

Chavarri, M. y Freites, J. 2018. *Aspergillus flavus* y aflatoxinas en granos de maíz molido provenientes del estado Guárico, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela*, 44(1): 2-3.

Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). 1996. *Productos de cereales y leguminosas*. Publicaciones de FUNDONORMA. Caracas. Norma N° 2135:1996.

De Sousa, E.; De Olivera, E.; De Luna, K. y Paiva, C. 2005. Inhibitory action of some essential oils and phytochemicals on the growth of various moulds isolated from foods. *Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal*, 48(2): 245-250.

Diáñez, F.; Santos, M.; Parra, C.; Navarro, M.; Blanco, R. y Gea, F. 2018. Screening of antifungal activity of 12 essential oils against eight pathogenic fungi of vegetables and mushroom. *Letters in Applied Microbiology*, 67(4): 400–410.

Elham, S. y Modhi, K. 2015. Micoflora De Maíz (*Zea maíz*) en Diferentes Ubicaciones en Hail Area-Arabia Saudita. *Revista Internacional De Investigación Científica Y Tecnológica*, 4(6): 227-230.

Estrada, G. y Ramírez, M. 2019. *Micología General*. Centro Editorial Universidad Católica de Manizales, Manizales.

Flórez, C. y Mojica, J. 2019. Determinación de la composición química de los aceites esenciales de Tomillo (*Thymus vulgaris*) y Romero (*Rosmarinus officinalis*) y su posible uso como antifúngico contra microorganismos fitopatógenos en productos agrícolas. Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Colombia.

Galarza, W. y Quimi, K. 2020. Efecto antifúngico del aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre cepas de *Aspergillus flavus* y *Penicillium expansum*. Trabajo de grado. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Guayaquil. Ecuador.

García, C. 1990. *Análisis microbiológico de los alimentos*. Segunda edición. Editorial ciencia 3, S.A. Caracas.

Hu, F.; Tu, X.; Thakur, K.; Hu, F.; Li, X.; Zhang, Y. y Wei, Z. 2019. Comparison of antifungal activity of essential oils from different plants against three fungi. *Food and Chemical Toxicology*, 134: 3-17.

Jaramillo, M. 2020. Evaluación de propiedades antibacterianas y antifúngicas de aceites esenciales. Trabajo de Grado. Universidad de Los Andes, Colombia.

Llorens, J. 2021. Los aceites esenciales y su actividad biológica. *Anales de química de la RSEQ*, 117(2): 165-170.

- Lumi, C.; Faria, C.; Fernandes, F.; Regina, S.; Parra, I.; Dos santos, F.; Da Silva, C. y Tessmann, D. 2015. Hongos aislados de granos de maíz (*Zea mays*) y producción de actividades enzimáticas asociadas. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*, 16: 15329-15343.
- Marín, S.; Cano, G.; Sanchis, V. y Ramos, A. 2018. The role of mycotoxins in the Human Exposome: application of mycotoxin biomarkers in exposome health studies. *Food and Chemical Toxicology*, 191(25198): 504-518.
- Martínez, M. 2018. Actividad antifúngica de *Melissa officinalis* (Toronjil) y *Rosmarinus officinalis* (Romero) sobre *Aspergillus flavus*. Trabajo de grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Mazzani, C.; Borges, O.; Luzón, O.; Barrientos, V. y Quijana, P. 2000. *Fusarium moniliforme*, *fumonisas* y *Aspergillus flavus* en granos de híbridos de maíz en el estado Guárico (Venezuela). *Revista de la facultad de agronomía*, 17(1): 185-189.
- Mesa, V.; Marín, P.; Ocampo, O.; Calle, J. y Monsalve, Z. 2019. Fungicidas a partir de extractos vegetales: una alternativa en el manejo integrado de hongos fitopatógenos. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 45(1): 23-30.
- Ocque, A. 2018. Evaluación del efecto inhibitorio del extracto crudo de *Syzygium aromaticum* contra especies de hongos filamentosos aislado del área de oncología del servicio autónomo Hospital universitario “Antonio Patricio de Alcalá” Cumaná. Trabajo de grado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.
- Pallarés, N.; Carballo, D.; Ferrer, E.; Rodríguez, Y. y Berrada, H. 2022. High-Throughput Determination of Major Mycotoxins with Human Health Concerns in Urine by LC-Q TOF MS and Its Application to an Exposure Study. *Toxins*, 14(1): 2.
- Pascual, M. y Calderón, V. 2000. *Microbiología alimentaria*. Segunda edición. Editorial Díaz de Santos. España.
- Prakash, B.; Kedia, A.; Mishra, P. y Dubey, N. 2015. Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities – potentials and challenges. *Food control*, 47: 381-391.
- Rana, I.; Rana, A. y Rajak, R. 2011. Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L.) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. *Brazilian Journal of Microbiology* 42(4): 1269-1277
- Rasooli, I. y Mirmostafa, S. 2003. Bacterial susceptibility and chemical composition of essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Thymus persicus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 2200-2205.

- Rasooli, I.; Hadi, M.; Yadegarina, D.; Gachkar, L.; Allameh, A. y Bagher, M. 2008. Antimycotoxic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum capiticum* L. essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 122: 135-139.
- Raveau, R.; Fontaine, J. y Lounés, A. 2020. Essential Oils as Potential Alternative Biocontrol Products against Plant Pathogens and Weeds. *Review Foods*, 9(3): 365.
- Ridell, R. 1950. Permanent stained mycology preparation obtained by liet culture. *Mycology*, 42: 265-270.
- Rojas, M. 2022. Actividad antimicrobiana de aceites esenciales de plantas. Trabajo de grado. facultad de ciencia e ingeniería en alimentos y biotecnología. Universidad técnica de Ambato, Ecuador.
- Saroj, A.; Oriyomi, O.; Nayak, A. y Haider, S. 2020. Phytochemicals of plant-derived essential oils: A novel green approach against pests. *In Natural remedies for pest, disease and weed control*, Academic Press (65:79).
- Sharma, A.; Rajendran, S.; Srivastava, A.; Sharma, S., y Kundu, B. 2017. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 123(3): 308–313.
- Suscaÿ, A.; Villanil, A.; Moretti, A.; Stea, G. y Logrieco, A. 2020. Identificación de especies de hongos toxigénicos asociados con la pudrición de la mazorca del maíz: Calmodulina como único gen informativo. *Revista Internacional de Microbiología Alimentaria*, 319(108491): 1-3.
- Torres, G.; Muñoz, O.; Álvarez, E.; Núñez, J.; Wall, A.; Sáyago, S. y Rosa, L. 2018. Optimización de la extracción e identificación de compuestos polifenólicos en anís (*Pimpinella anisum*), clavo (*Syzygium aromaticum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) mediante HPLC acoplado a espectrometría de masas. *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21(2): 104-112.
- Triola, M. 2009. *Estadística*. Décima edición. Editorial Pearson. México.
- Uguña, D. 2019. Análisis *in vitro* de la actividad biológica del aceite esencial de clavo (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum verum*) frente a *Aspergillus flavus*. Trabajo de Grado. Universidad Politecnica Salesiana. Ecuador.
- Valdés, O.; Borrego, S.; Vivar, I.; Anaya, M.; Molina, A. 2016. Actividad antifúngica del aceite esencial de clavo de olor en el control del biodeterioro fúngico de documentos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 47(2): 78-85.

- Villalva, A. 2021. Conociendo a los hongos microscópicos. *Nuestra Tierra*, 18(35): 3-5.
- Zaker, M. 2016. Natural Plant Products as Eco-friendly Fungicides for Plant Diseases Control: A Review. *The Agriculturists*, 14(1): 134-141.

## METADATOS

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA FLOR DE <i>Syzygium aromaticum</i> CONTRA HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DE HARINA DE MAÍZ PRECOCIDA PARA CONSUMO HUMANO
Subtítulo	

#### Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
<b>DORIANDEL VALLE AMAYA RUIZ</b>	CVLAC	<b>26.516.234</b>
	e-mail	<a href="mailto:doriangelamaya1@gmail.com">doriangelamaya1@gmail.com</a>
	e-mail	
<b>JESÚS ALI MALAVÉ MORALES</b>	CVLAC	<b>25.281.221</b>
	e-mail	<b>jesus1995ali@gmail.com</b>
	e-mail	<b>jesus1995ali@hotmail.com</b>
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

#### Palabras o frases claves:

<b>Hongos filamentosos, extracto vegetal, micoflora, micotoxinas.</b>

## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

### Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Sub área
<b>CIENCIAS</b>	<b>BIOANÁLISIS</b>

### Resumen (abstract):

Se evaluó la actividad antifúngica del extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* contra especies de hongos filamentosos aislados de harina de maíz precocida para consumo humano, para lo cual se tomaron 10 muestras de harina de maíz precocida, las cuales se sometieron a diluciones seriadas con solución salina fisiológica y luego se sembraron por el método de difusión en agar, en placas que contenían agar Sabouraud dextrosa (ASD) para así lograr aislar e identificar los microorganismos fúngicos. Seguidamente, se prepararon suspensiones de conidios de los microorganismos aislados. Posteriormente, al extracto se le determinó la actividad antifúngica mediante el método de difusión en agar y concentración mínima inhibitoria (CMI). Los hongos filamentosos aislados de las 10 muestras de harina de maíz precocida fueron: *Penicillium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Mucor* sp., *Aspergillus flavus*, *A. oryzae* y *A. niger*. Los resultados obtenidos de la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Syzygium aromaticum* se evidenció por la formación de halos de inhibición promedio, alrededor del disco impregnado con dicho extracto, dentro de estos resultados se observaron halos de inhibición promedio de 24,77 mm para *Penicillium* sp., 18,33 mm para *Fusarium moniliforme*, 16,20 mm para *A. oryzae*, 14,90 mm para *Mucor* sp., 12,77 mm para *A. flavus* y 8,87 mm para *A. niger*, respectivamente. La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 11,13 mg/ml para las especies *Penicillium* sp., y *Fusarium moniliforme*, 44,50 mg/ml para *A. oryzae*, *Mucor* sp., y *A. flavus* y 89,00 mg/ml para *A. niger*. En conclusión, se pudo evidenciar que el extracto etanólico de la flor de *Syzygium aromaticum* demostró tener propiedades antifúngicas contra los hongos filamentosos analizados.

### Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

#### Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
<b>LUZ MILAGROS SALAZAR</b>	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input checked="" type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	<b>13.630.199</b>
	e-mail	<b>salazarluzmarina1975@gmail.com</b>
	e-mail	
<b>MILAGROS FARIÑAS</b>	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	<b>8.440.052</b>
	e-mail	<b>milyfari2006@gmail.com</b>
	e-mail	
<b>JOSEFA DÍAZ</b>	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	<b>5.007.425</b>
	e-mail	<b>diazvv@gmail.com</b>
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2023	06	30

Lenguaje: SPA \_\_\_\_\_



## Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

### Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
<b>TESIS JESUS ALI MALAVE Y DORIAN AMAYA.DOC</b>	<b>Application/word</b>

Alcance:

Espacial: \_\_\_\_\_ (Opcional)

Temporal: \_\_\_\_\_ (Opcional)

**Título o Grado asociado con el trabajo:**

**Licenciado(a) en BIOANÁLISIS**

---

**Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado(a)**

---

**Área de Estudio: BIOANÁLISIS**

---

**Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:** Universidad de Oriente

---



---

# Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
CONSEJO UNIVERSITARIO  
RECTORADO

CUN°0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano  
**Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ**  
Vicerrector Académico  
Universidad de Oriente  
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE  
SISTEMA DE BIBLIOTECA  
RECIBIDO POR *[Firma]*  
FECHA *5/8/09* HORA *5:30*

Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

*[Firma]*  
**JUAN A. BOLANOS CUNPELO**  
Secretario

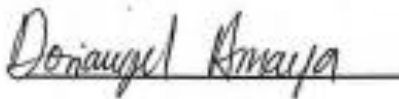


C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

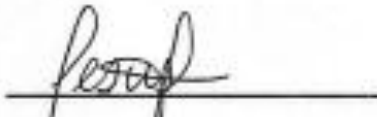
JABC/YGC/manuja

**Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6**

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): "los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización".



**DORIANDEL VALLE AMAYA RUIZ  
AUTOR**



**JESÚS ALÍ MALAVÉ MORALES  
AUTOR**



**PROF: LUZ MILAGROS SALAZAR  
ASESORA**