



DOI: <https://doi.org/10.23857/dc.v10i4.4078>

Ciencias Técnicas y Aplicadas
Artículo de Investigación

Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de orégano contra *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en condiciones in vitro

Evaluation of the antimicrobial activity of oregano ethanolic extract against *Staphylococcus aureus* and total coliforms under in vitro conditions

Avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico de orégãos frente a *Staphylococcus aureus* e coliformes totais em condições in vitro

Denisse Juleidy Mendoza Véliz ^I
denisse.mendoza2015@uteq.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0001-6442-7412>

Kattia Paulina Pinos Coello ^{II}
kattia.pinos2015@uteq.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0006-2274-0538>

Martha Cecilia Ramos Cedeño ^{III}
mramosc@uteq.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0003-1038-4837>

Luis Santiago Macías Mendoza ^{IV}
luis.maciasme@ug.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-0107-8286>

Correspondencia: denisse.mendoza2015@uteq.edu.ec

***Recibido:** 27 de septiembre de 2024 ***Aceptado:** 24 de octubre de 2024 * **Publicado:** 04 de noviembre de 2024

- I. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Los Ríos, Ecuador.
- II. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Los Ríos, Ecuador.
- III. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Quevedo, Los Ríos, Ecuador, Ecuador.
- IV. Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Guayas, Ecuador.

Resumen

El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de orégano (*Origanum vulgare*) frente a *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en condiciones in vitro, confirmando en la investigación que las concentraciones aplicadas del extracto lograron inhibir el crecimiento de estos microorganismos. Fue aplicado un diseño A*B+1 con una posterior prueba de Tukey para observar diferencias entre los promedios y de una evaluación contrastes ortogonales para corroborar diferencias entre el testigo y los tratamientos; el factor A (Concentración del extracto) constó de tres niveles (10, 15 y 20 %) el factor B (tipo de microorganismo) estuvo compuesto de dos (*Staphylococcus aureus* y coliformes totales), lo que generó 7 tratamientos con tres repeticiones, dando un total de 21 unidades experimentales; la información se analizó en los software estadístico Statgraphics e Infostat. La variable dependiente en este estudio fue el porcentaje de inhibición del crecimiento (%), mostrando que la adición de concentraciones del extracto etanólico de orégano produjo diferencias significativas ($p < 0,05$). La dosificación óptima fue del 20 %, logrando la mayor inhibición en ambos microorganismos, atribuido a la presencia de compuestos bioactivos en el extracto.

Palabras Claves: Orégano; extracto etanólico; patógenos; in vitro.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of the ethanolic extract of oregano (*Origanum vulgare*) against *Staphylococcus aureus* and total coliforms under in vitro conditions, confirming in the research that the applied concentrations of the extract were able to inhibit the growth of these microorganisms. An A*B+1 design was applied with a subsequent Tukey test to observe differences between the means and an evaluation of orthogonal contrasts to corroborate differences between the control and the treatments; factor A (extract concentration) consisted of three levels (10, 15 and 20%) and factor B (type of microorganism) was composed of two (*Staphylococcus aureus* and total coliforms), which generated 7 treatments with three repetitions, giving a total of 21 experimental units; the information was analyzed in the statistical software Statgraphics and Infostat. The dependent variable in this study was the percentage of growth inhibition (%), showing that the addition of concentrations of the ethanolic extract of oregano produced significant differences ($p <$

0.05). The optimal dosage was 20%, achieving the highest inhibition in both microorganisms, attributed to the presence of bioactive compounds in the extract.

Keywords: Oregano; ethanolic extract; pathogens; in vitro.

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico de orégãos (*Origanum vulgare*) contra *Staphylococcus aureus* e coliformes totais em condições in vitro, confirmando na investigação que as concentrações aplicadas do extrato conseguiram inibir o crescimento destes microrganismos. Foi aplicado um desenho A*B+1 com posterior teste de Tukey para observar diferenças entre médias e avaliação de contrastes ortogonais para corroborar diferenças entre o controle e os tratamentos; o fator A (concentração do extrato) foi composto por três níveis (10, 15 e 20%) o fator B (tipo de microrganismo) foi composto por dois (*Staphylococcus aureus* e coliformes totais), o que gerou 7 tratamentos com três repetições, totalizando 21 unidades experimentais; A informação foi analisada nos softwares estatísticos Statgraphics e Infostat. A variável dependente neste estudo foi a percentagem de inibição do crescimento (%), mostrando que a adição de concentrações do extrato etanólico de orégãos produziu diferenças significativas ($p < 0,05$). A dosagem ideal foi de 20%, conseguindo a maior inibição em ambos os microrganismos, atribuída à presença de compostos bioativos no extrato.

Palavras-chave: Orégãos; extrato etanólico; patogénicos; in vitro.

Introducción

Existe una amplia variedad de bacterias, hongos y levaduras que colonizan los alimentos en su etapa de producción, cosecha, poscosecha e industrialización, como son el caso del *Escherichia coli* (Carrillo et al., 2011), *Fusarium oxysporum* (Zuriegat et al., 2021), *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus* (Tovalino & Contreras, 2010), *Aspergillus niger* (Quintero et al., 2011), mohos y levaduras (Villoldo et al., 2020), entre otros, que generan pérdidas en toda la cadena de productividad.

La creciente resistencia microbiana a los antibióticos, agroquímicos y conservantes sintéticos representa una problemática creciente en la salud pública y en la seguridad alimentaria (Dhingra et al., 2020). En este contexto, la búsqueda de alternativas naturales eficaces se ha vuelto crucial, tanto

Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de orégano contra *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en condiciones in vitro

en la medicina como en la industria agropecuaria, alimentaria y farmacéutica (Murugaiyan et al., 2022).

Entre las innovaciones para contrarrestar microorganismos (Hidalgo et al., 2021) están la utilización de extractos vegetales como los aceites esenciales (Nazari et al., 2019), antioxidantes naturales (Caleja et al., 2016), cúrcuma (Thin et al., 2022), ϵ -polilisina (Cusme et al., 2023), bioencapsulantes (Flores et al., 2023), propóleo (Segueni et al., 2023), orégano (Araujo et al., 2021), ajo (Huamani & Arauco, 2024) y extractos etanólicos (Korkmaz et al., 2021).

Dentro de estas alternativas, el orégano (*Origanum vulgare*) destaca por su contenido en compuestos como el timol, fenoles, piridinas, flavonoides y el carvacrol, conocidos por su potente actividad antimicrobiana, y muy a pesar de ser una fuente económica y accesible, su uso en la formulación de productos antimicrobianos sigue siendo limitado (Leal et al., 2024). Este subaprovechamiento plantea un desafío tanto en términos de innovación como de desarrollo de nuevas estrategias para el control de patógenos, especialmente en sectores en los que la resistencia microbiana es un riesgo significativo (Barbosa, 2024).

El extracto etanólico de orégano ha demostrado ser particularmente efectivo en la inhibición de varios microorganismos patógenos, incluidas cepas de *Staphylococcus aureus* (Liu et al., 2017), una bacteria que puede contaminar alimentos y productos de consumo, generando toxinas perjudiciales para los consumidores (Howden et al., 2023). Además, otros microorganismos, como los coliformes totales (Nastasi et al., 2022), mohos y levaduras (Soltani et al., 2021) presentes también en productos agrícolas alimenticios, que no solo disminuyen la calidad del producto, sino que pueden afectar sus características sensoriales y nutricionales. Estos efectos resaltan la importancia de explorar las propiedades antimicrobianas de compuestos naturales como el orégano, que además de ser efectivos, pueden reducir la necesidad de conservantes químicos, abordando al mismo tiempo los riesgos asociados con la resistencia antimicrobiana (Teshome et al., 2022).

Diversas investigaciones han revelado que el orégano posee propiedades antimicrobianas efectivas no solo contra bacterias Gram-positivas, sino también contra otros tipos de microorganismos, como bacterias Gram-negativas, hongos y levaduras (Ramos et al., 2020). Esta versatilidad en la actividad del orégano se atribuye principalmente a la acción sinérgica de sus componentes bioactivos, que al combinarse ofrecen una acción antimicrobiana más potente y de amplio espectro (Bautista et al., 2021), especialmente con el uso del extracto etanólico de orégano que permite obtener una mayor

Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de orégano contra *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en condiciones in vitro

concentración de estos compuestos activos, lo cual es fundamental para maximizar su efectividad contra microorganismos patógenos específicos (Knez et al., 2020). Características que convierten al extracto etanólico de orégano en un candidato prometedor para su aplicación en industrias como la agricultura, alimentaria y la farmacéutica, donde la seguridad microbiológica es esencial (Solanki et al., 2023).

En esta investigación, se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de orégano sobre *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en condiciones in vitro, con el fin de determinar su potencial como inhibidor del crecimiento de estos patógenos. Este estudio no solo busca ofrecer una alternativa natural y efectiva para el control microbiano, sino que también pretende contribuir al desarrollo de estrategias más sostenibles y menos dependientes de compuestos sintéticos, alineándose con las demandas actuales de los consumidores por productos más naturales y menos invasivos en sus cultivos y alimentos.

Metodología

Se aplicó un diseño experimental $A*B+1$, seguido de una prueba de Tukey para evaluar las diferencias entre los promedios, así como contrastes ortogonales para verificar las diferencias entre el grupo testigo y los tratamientos aplicados. El factor A, correspondiente a la concentración del extracto, incluyó tres niveles (10%, 15% y 20%), mientras que el factor B, que se refirió al tipo de microorganismo, estuvo compuesto por dos categorías: *Staphylococcus aureus* y coliformes totales (Tabla 1).

Tabla 1. Factores de estudio

Factores	Simbología	Descripción
A: Concentración del extracto	a0	10 %
	a1	15 %
	a2	20 %
B: Tipo de microorganismo	b0	<i>Staphylococcus aureus</i>
	b1	Coliformes totales

Esto dio lugar a un total de siete tratamientos, cada uno con tres repeticiones, lo que resultó en 21 unidades experimentales en total (Tabla 2). La información recopilada fue analizada utilizando los

Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de orégano contra *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en condiciones in vitro

softwares estadísticos Statgraphics e Infostat. La variable dependiente de este estudio fue el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial (%).

Tabla 2. Tratamientos

Tratamientos	Simbología	Descripción
T0	T0	Testigo
T1	a0b0	10 % + <i>Staphylococcus aureus</i>
T2	a0b1	10 % + coliformes totales
T3	a1b0	15 % + <i>Staphylococcus aureus</i>
T4	a1b1	15 % + coliformes totales
T5	a2b0	20 % + <i>Staphylococcus aureus</i>
T6	a2b1	20 % + coliformes totales

El orégano utilizado se obtuvo en el Cantón El Empalme-Ecuador, en la finca “Las Orquídeas” del recinto Santa Marianita; la cual se extrajo el concentrado con alcohol etílico como solvente con filtraciones intermedias a temperatura controlada (Rodríguez et al., 2015)

Para cuantificar el porcentaje de inhibición del crecimiento, se empleó la metodología descrita por Arce et al. (2019) a través de la técnica de difusión en agar. Las unidades experimentales se prepararon inoculando 150 µl de una solución de patógenos en placas de Petri de 9 cm de diámetro, utilizando Agar sal manitol para *Staphylococcus aureus* y Agar VRBL para coliformes totales. La solución se distribuyó homogéneamente en toda la placa con un asa bacteriológica estéril, incubándose a una temperatura de 27 °C hasta su crecimiento. Posteriormente, se colocó en el centro de cada placa un disco de papel filtro de 5 mm de diámetro, impregnado con extracto etanólico de orégano a concentraciones del 10 %, 15 % y 20 %. El control consistió en un disco de papel filtro impregnado con agua estéril, que se ubicó en la placa petri junto con los microorganismos.

Luego, fueron medidos los diámetros de las colonias a los 1, 2, 3 y 4 días con una regla graduada, restando el diámetro del disco sembrado y utilizando la ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{diámetro colonia control} - \text{diámetro colonia tratada}}{\text{diámetro colonia control}} \times 100$$

Resultados

El análisis de ANOVA mostró que las concentraciones del extracto etanólico de orégano tuvieron un efecto estadísticamente significativo en la inhibición del crecimiento ($p < 0,05$). El tipo de microorganismo y a interacción entre las variables AxB no presentaron significancia representativa ($p > 0,05$) (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen ANOVA porcentaje inhibición del crecimiento

Variable	Concentración del extracto (A)	del Tipo de microorganismo (B)	Interacción (AxB)
%IC día 1	<0,0001**	0,1679 ^{ns}	0,9967 ^{ns}
%IC día 2	<0,0001**	0,3113 ^{ns}	0,2511 ^{ns}
%IC día 3	<0,0001**	0,3166 ^{ns}	0,1852 ^{ns}
%IC día 4	<0,0001**	0,6321 ^{ns}	0,2559 ^{ns}

* Significativo **Muy significativo NS=No significativo

Los valores en los contrastes ortogonales para la variable porcentaje de inhibición del crecimiento, indican una alta variabilidad en la comparación entre los controles y sus respectivos tratamientos (Tabla 4). Lo que representa una clara efectividad de los tratamientos propuestos versus sus testigos.

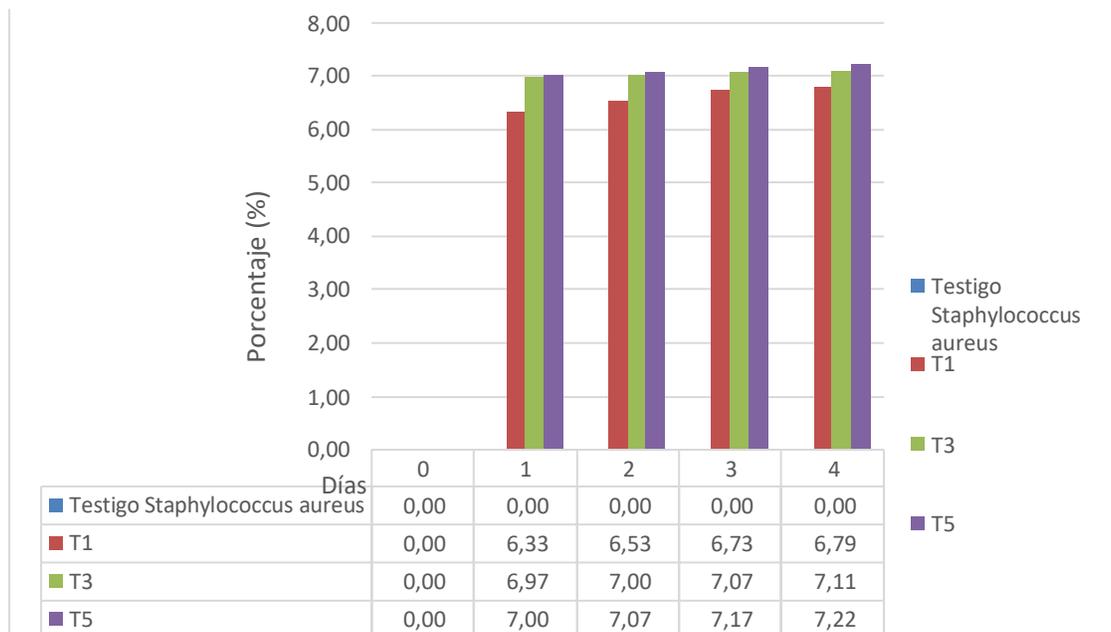
Tabla 4. Contrastes ortogonales de inhibición del crecimiento micelial

Contraste	Promedio del contraste
Testigo contra tratamientos día 1	<0,0001**
Testigo contra tratamientos día 2	<0,0001**
Testigo contra tratamientos día 3	<0,0001**
Testigo contra tratamientos día 4	<0,0001**

Como se aprecia en la Figura 1, en la prueba de subconjuntos de Tukey, indica que a medida que se incrementa la concentración del extracto de orégano la inhibición tiende a aumentar, por ello el tratamiento más óptimo para inhibir *Staphylococcus aureus* fue el T3 (extracto al 20 %).

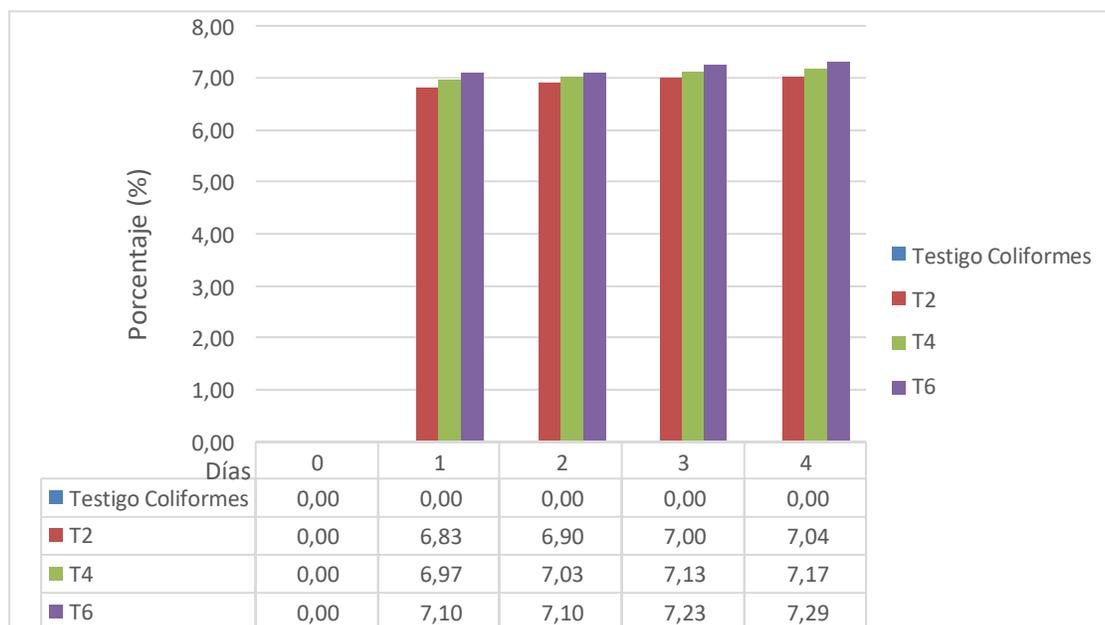
Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de orégano contra *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en condiciones in vitro

Figura 1. Prueba Tukey para inhibición de *Staphylococcus aureus*



La prueba de Tukey con la Figura 2, muestra que en el caso de los coliformes que su inhibición fue directamente proporcional a la concentración del extracto de orégano, por tal motivo, el mejor tratamiento para este microorganismo fue T6 (extracto al 20 %).

Figura 2. Prueba Tukey para inhibición de Coliformes



Discusión

Los extractos de orégano y sus componentes individuales han mostrado de manera constante propiedades antimicrobianas in vitro contra diversos patógenos, además in vivo de impulsar el sistema inmunológico del huésped, lo que contribuye a la erradicación de estos microorganismos. (Seylam & Çelebi, 2021). En modelos in vitro se ha observado que el orégano y algunos de sus componentes suprimen los patógenos que causan el deterioro de los productos agrícolas o alimenticios que contribuyen a las enfermedades humanas y animales; tanto el aceite esencial como otros extractos de orégano pueden suprimir el crecimiento de bacterias grampositivas y gramnegativas, levaduras y algunos hongos (Hammer et al., 1999)

Las bacterias grampositivas son más sensibles a los extractos de orégano que las gramnegativas (Przybyłek & Karpiński, 2019), debido a la complejidad de su membrana externa, que confiere a la superficie bacteriana más compleja, actuando como barrera respecto a la permeabilidad de la membrana celular (Smith et al., 1998). Dañando directamente la membrana celular de las bacterias grampositivas, provocando la ruptura de la membrana celular, el bloqueo de los sistemas enzimáticos y la interrupción del intercambio iónico, este tipo de daño de la permeabilidad de la membrana celular suele ser letal y es conocida como muerte celular (Sakkas & Papadopoulou, 2017).

Ghosh et al. (2022) argumentan que los extractos hidroalcohólicos, en presencia de hongos, presentan mecanismos que inhiben el crecimiento de los micelios, alterando su morfología y afectando la permeabilidad de las membranas celulares, pudiendo interferir en la biosíntesis fúngica de ergosterol (Xu et al., 2019). Esto provoca una permeabilidad en la membrana plasmática fúngica, lo que lleva a la liberación de componentes como proteínas o ácidos nucleicos, resultando en su muerte.

Las capacidades inhibitorias se deben a los compuestos volátiles carvacrol (isopropil-o-cresol o 5-isopropil-2-metilfenol) y timol (isopropil-m-cresol) principales constituyentes de los aceites esenciales de orégano, en los extractos alcohólicos están presentes compuestos bioactivos identificados como los ácidos fenólicos (ácido cafeico, ácido p-cumárico), el ácido rosmarínico y sus derivados cafeoílicos, el ácido ursólico y el ácido carnósico, así como una mezcla de flavonoides (Singletary, 2010). Asimismo, la actividad antimicrobiana está influenciada por la concentración del extracto, la duración del tratamiento y el tipo de microorganismo involucrado (Bouzahouane et al., 2021).

Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de orégano contra *Staphylococcus aureus* y coliformes totales en condiciones in vitro

Kosakowska et al. (2021) elaboraron pruebas in vitro con extractos hidroalcohólicos de orégano frente a las bacterias gram positivas, logrando una concentración mínima inhibitoria de 3,2 % en *Staphylococcus aureus*, para *Listeria monocytogenes* requirieron 2 % y 1 % en *Bacillus cereus* respectivamente; con las gram negativas *Escherichia coli* y *salmonella enteritidis* se requirieron 6,4 % para su inhibición. Los extractos etanólicos manifestaron inhibición también frente a *Salmonella tiphy*, *Bacillus subtilis*, y *Streptococcus mutans* (Martínez et al., 2012).

Conclusiones

El estudio sobre la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de orégano (*Origanum vulgare*) revela su potencial como un agente natural eficaz contra *Staphylococcus aureus* y coliformes totales. Los resultados mostraron que las concentraciones del 10 %, 15 % y 20 % del extracto inhibieron significativamente el crecimiento de estos microorganismos, siendo la concentración del 20 % la más efectiva. Este hallazgo es relevante, dado el aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos y la necesidad de alternativas naturales en la industria alimentaria y agrícola, la capacidad del orégano para actuar como un conservante natural no solo podría mejorar la seguridad alimentaria, sino también contribuir a prácticas agrícolas más sostenibles. Además, el uso de extractos vegetales como el orégano se alinea con las tendencias actuales hacia productos menos invasivos y más amigables con el medio ambiente. Por lo tanto, este estudio no solo respalda el uso del orégano en aplicaciones antimicrobianas, sino que también abre nuevas vías para investigaciones futuras sobre su formulación y aplicación en la industria biotecnológica, promoviendo así una mayor seguridad y calidad en los productos consumidos.

Referencias

Araújo, D. L., da Silva Machado, B. A., Mascarenhas, J. M. F., Alves, S. P., de Sousa, S. L. F., de Moura, L. C., ... & Souza, M. S. (2021). Analysis of the antimicrobial activity of the essential oil of oregano (*Origanum vulgare*): a review study on the main effects on pathogens. *Research, Society and Development*, 10(2), e36810212584-e36810212584. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12584>

- Barbosa, Y. A. C. (2024). Cadenas de suministro para especies frutales en Latinoamérica y el Caribe: una revisión de alcance. *Journal of Management & Business Studies*, 6(1), 1-24. <https://orcid.org/0009-0003-9627-0901>
- Bautista-Hernández, I., Aguilar, C. N., Martínez-Ávila, G. C., Torres-León, C., Iliana, A., Flores-Gallegos, A. C., ... & Chávez-González, M. L. (2021). Mexican Oregano (*Lippia graveolens* Kunth) as source of bioactive compounds: A review. *Molecules*, 26(17), 5156. <https://doi.org/10.3390/molecules26175156>
- Bouzahouane, H., Ayari, A., Guehria, I., & Riah, O. (2021). PROPOLIS: ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION ANALYSIS: Properties of propolis. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 10(6), e3211. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.3211>
- Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Caroch, M., Oliveira, M. B. P., & Ferreira, I. C. (2016). Fortification of yogurts with different antioxidant preservatives: A comparative study between natural and synthetic additives. *Food chemistry*, 210, 262-268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.114>
- Carrillo, M. L., Castillo, L. N., & Mauricio, R. (2011). Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de propóleos de la Huasteca Potosina (México). *Información tecnológica*, 22(5), 21-28. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642011000500004>
- Cusme, N. E. L., Pinargote, I. L. L., Mendoza, V. Y. P., Becerra, N. M. Q., Zamora, B. M. B., & Mendoza, A. N. C. (2023). Uso de propóleo y ϵ -polilisisina como agentes preservantes en yogurt batido. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10(1), 26-40. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8739339>
- Dhingra, S., Rahman, N. A. A., Peile, E., Rahman, M., Sartelli, M., Hassali, M. A., & Haque, M. (2020). Microbial resistance movements: an overview of global public health threats posed by antimicrobial resistance, and how best to counter. *Frontiers in Public Health*, 8, 535668. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.535668>
- Flores-Loor, E. L., Plúa-Ortíz, B. A., Sánchez-Plaza, F. A., Cevallos-Cedeño, R. E., Díaz-Camposano, E. G., & Vaca-Martínez, L. Y. (2023). Influencia de las gomas naturales carragenina y xanthan como estabilizantes en el jugo de tamarindo (*Tamarindus indica*).

Revista Científica INGENIAR: Ingeniería, Tecnología E Investigación. ISSN: 2737-6249., 6(12), 93-109. <https://doi.org/10.46296/ig.v6i12.0106>

Ghosh, S., Al-Sharify, Z. T., Maleka, M. F., Onyeaka, H., Maleke, M., Maolloum, A., Godoy, L., Meskini, M., Rami, M. R., Ahmadi, S., Al-Najjar, S. Z., Al-Sharify, N. T., Ahmed, S. M., & Dehghani, M. H. (2022). Propolis efficacy on SARSCOV viruses: A review on antimicrobial activities and molecular simulations. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(39), 58628-58647. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-21652-6>

Hammer, K. A., Carson, C. F., & Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6), 985-990. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x>

Hidalgo, L., Marín, R., Yungasaca, G., & Yanza, J. (2021). ESTUDIO DE DIFERENTES FORMULACIONES DE YOGURT ORGÁNICO DOÑA GODINA. *Revista MANGIFERA*, 3. <http://200.11.218.106/index.php/mangifera/article/view/1384>

Howden, B. P., Giulieri, S. G., Wong Fok Lung, T., Baines, S. L., Sharkey, L. K., Lee, J. Y., ... & Stinear, T. P. (2023). *Staphylococcus aureus* host interactions and adaptation. *Nature Reviews Microbiology*, 21(6), 380-395. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00852-y>

Huamani, S. A. G., & ARAUCO, H. E. O. (2024). EL AJO Y SUSEFECTOS ANTIMICROBIANOS GARLIC AND ANTIMICROBIAL EFFECTS. *IPHO-Journal of Advance Research in Medical & Health Science*, 2(05), 01-04. <https://doi.org/10.5281/zenodo.11364739>

Insuasti, M. I. T. (2022). EL EFECTO ANTIMICROBIANO DE CURCUMA LONGA L. Y LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE SUS COMPONENTES. *Revista Científica Multidisciplinaria InvestiGo*, 3(6), 45-53.

Knez Hrnčič, M., Cör, D., Simonovska, J., Knez, Ž., Kavrakovski, Z., & Rafajlovska, V. (2020). Extraction techniques and analytical methods for characterization of active compounds in *Origanum* species. *Molecules*, 25(20), 4735. <https://doi.org/10.3390/molecules25204735>

Korkmaz, I. O., Bilici, C., & Korkmaz, S. (2021). Sensory, pH, syneresis, water-holding capacity, and microbiological changes in homemade yogurt prepared with maca (*Lepidium meyenii*) powder and propolis extract. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 23, 100291. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100291>

- Kosakowska, O., Węglarz, Z., Pióro-Jabrucka, E., Przybył, J. L., Kraśniewska, K., Gniewosz, M., & Bączek, K. (2021). Antioxidant and antibacterial activity of essential oils and hydroethanolic extracts of Greek oregano (*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart) and common oregano (*O. vulgare* L. subsp. *vulgare*). *Molecules*, 26(4), 988. <https://doi.org/10.3390/molecules26040988>
- Leal, K., B Parmeggiani, E. ., M Rodrigues, C., & R Leal, M. L. (2024). Efectos del uso de fitonutrientes en la dieta de rumiantes lecheros: Revisión sistemática. *Revista MVZ Córdoba*, 29(3), e3545. <https://doi.org/10.21897/rmvz.3545>
- Liu, Q., Meng, X., Li, Y., Zhao, C. N., Tang, G. Y., & Li, H. B. (2017). Antibacterial and antifungal activities of spices. *International journal of molecular sciences*, 18(6), 1283. <https://doi.org/10.3390/ijms18061283>
- Martínez G, J., Garcia P, C., Durango R, D., & Gil G, J. (2012). Caracterización de propóleos provenientes del municipio de Caldas obtenido por dos métodos de recolección. *Revista MVZ Córdoba*, 17(1), 2861-2869. <https://doi.org/10.21897/rmvz.254>
- Murugaiyan, J., Kumar, P. A., Rao, G. S., Iskandar, K., Hawser, S., Hays, J. P., & van Dongen, M. B. (2022). Progress in alternative strategies to combat antimicrobial resistance: Focus on antibiotics. *Antibiotics*, 11(2), 200. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020200>
- Nastasi, J. R., Kontogiorgos, V., Daygon, V. D., & Fitzgerald, M. A. (2022). Pectin-based films and coatings with plant extracts as natural preservatives: A systematic review. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 193-211. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.014>
- Nazari, M., Ghanbarzadeh, B., Kafil, H. S., Zeinali, M., & Hamishehkar, H. (2019). Garlic essential oil nanophytosomes as a natural food preservative: Its application in yogurt as food model. *Colloid and Interface Science Communications*, 30, 100176. <https://doi.org/10.1016/j.colcom.2019.100176>
- Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial properties of propolis. *Molecules*, 24(11), 2047. <https://doi.org/10.3390/molecules24112047>
- Quintero-Cerón, J. P., Váquiro, H. A., Solanilla, J. F., Murillo, E., & Méndez, J. J. (2011, November). In vitro fungistatic activity of ethanolic extract of propolis against postharvest phytopathogenic fungi: preliminary assessment-actividad fungistática in vitro del extracto etanólico del propóleo en el control de hongos fitopatógenos en poscosecha: estudio

preliminar. In II International Conference on Postharvest and Quality Management of Horticultural Products of Interest for Tropical Regions 1016 (pp. 157-162). <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2014.1016.22>

Ramos Perfecto, D., Maita Véliz, L., Maita Castañeda, M. L., & Castro Luna, A. (2020). Un producto natural de posible apoyo al tratamiento de la periodontitis: Revisión bibliográfica. *Avances en Odontoestomatología*, 36(3), 143-149. <https://dx.doi.org/10.4321/s0213-12852020000300003>

Rodríguez Rodríguez, L. E., Amores, W. G., Arias, A. E., Bazán, M. B. M., Suárez, S. B., & Cisnero, Y. B. (2015). Optimización de la extracción alcohólica para la obtención de soluciones concentradas de propóleos. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 44(1), 47-57. <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v44n1.54237>

Sakkas, H., & Papadopoulou, C. (2017). Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. *Journal of microbiology and biotechnology*, 27(3), 429-438. <https://doi.org/10.4014/jmb.1608.08024>

Segueni, N., Boutaghane, N., Asma, S. T., Tas, N., Acaroz, U., Arslan-Acaroz, D., ... & Nieto, G. (2023). Review on Propolis Applications in Food Preservation and Active Packaging. *Plants*, 12(8), 1654. <https://doi.org/10.3390/plants12081654>

Seylam Küşümler, A., & Çelebi, A. (2021). Propolis ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Akademik Gıda*, 89-97. <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.927709>

Singletary, K. (2010). Oregano: overview of the literature on health benefits. *Nutrition Today*, 45(3), 129-138. <https://doi.org/10.1097/NT.0b013e3181dec789>

Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. 1998. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 26: 118-122. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.1998.00303.x>

Solanki, J., Khanpara, P., Tilva, T., & Faldu, S. (2023). A REVIEW ON MIRACLE PLANT OREGANO. https://wjpr.s3.ap-south-1.amazonaws.com/article_issue/d525a983b6ded449bca802437514b840.pdf

Soltani, S., Shakeri, A., Iranshahi, M., & Boozari, M. (2021). A review of the phytochemistry and antimicrobial properties of *Origanum vulgare* L. and subspecies. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 20(2), 268. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.113874.14539>

- Teshome, E., Forsido, S. F., Rupasinghe, H. V., & Olika Keyata, E. (2022). Potentials of natural preservatives to enhance food safety and shelf life: A review. *The Scientific World Journal*, 2022(1), 9901018. <https://doi.org/10.1155/2022/9901018>
- Thin, D. B., Thinh, B. B., & Hanh, D. H. (2022). Composición química y actividad antimicrobiana de aceites esenciales de hojas y rizomas de *Curcuma zedoaria* obtenidos mediante extracción con fluido supercrítico. *Nexo Revista Científica*, 35(04), 1091-1098. <https://doi.org/10.5377/nexo.v35i04.15553>
- Tovalino, F. R. M., & Contreras, S. S. (2010). Evaluación in vitro del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa-Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). *Revista Estomatológica Herediana*, 20(1), 19-19. <https://doi.org/10.20453/reh.v20i1.1777>
- Villoldo, A. E. C., Carrizo, C. B., Ahrendts, M. R. B., & Carrillo, L. (2020). Levaduras aisladas de mieles como antagonistas de mohos patógenos de cultivos. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 119(2), 8. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=8500361>
- Xu, X., Pu, R., Li, Y., Wu, Z., Li, C., Miao, X., & Yang, W. (2019). Chemical Compositions of Propolis from China and the United States and their Antimicrobial Activities Against *Penicillium notatum*. *Molecules*, 24(19), 3576. <https://doi.org/10.3390/molecules24193576>
- Zuriegat, Q., Zheng, Y., Liu, H., Wang, Z., & Yun, Y. (2021). Current progress on pathogenicity - related transcription factors in *Fusarium oxysporum*. *Molecular plant pathology*, 22(7), 882-895. <https://doi.org/10.1111/mpp.13068>
- .