



7^{mo}
Congreso de
Medio Ambiente

Actas 7mo Congreso de Medio Ambiente AUGM
22 al 24 de mayo de 2012. UNLP. La Plata Argentina

PRODUCTOS AMBIENTALMENTE AMIGABLES DE ORIGEN VEGETAL EMPLEADOS EN EL CONTROL DE MICROORGANISMOS INTERVINIENTES EN EL BIODETERIORO DEL PATRIMONIO CULTURAL

**Environmentally friendly products of vegetal origin used in the control of
microorganisms involved in biodeterioration of cultural heritage**

Sandra Gómez de Saravia ^{*(1, 2, 3)}, Sofía Borrego ⁽⁴⁾, Paola Lavin ^(1, 5), Oderlaise Valdés ⁽⁴⁾,
Isbel Vivar ⁽⁴⁾, Patricia Battistoni ^(1, 5), Patricia Guiamet ^(1, 5, 6).

⁽¹⁾ Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CCT La Plata- CONICET. C.C. 16, Suc.4, (1900), La Plata.

⁽²⁾ Facultad de Ciencias Naturales, UNLP.

⁽³⁾ CICBA

⁽⁴⁾ Laboratorio de Conservación Preventiva. Archivo Nacional de la República de Cuba. Compostela 906 esquina a San Isidro, CP 10100, La Habana Vieja, La Habana, Cuba. Teléfono (537) 862 9436. Correo: sborrego62@aol.com

⁽⁵⁾ CONICET

⁽⁶⁾ Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP.

* Autor para correspondencia: +54 221 4257430 (int. 117) sgomez@inifta.unlp.edu.ar

Palabras claves: aceites esenciales, actividad antimicrobiana, extractos vegetales

Keywords: essential oils, antimicrobial activity, vegetal extracts

Título abreviado: Productos vegetales y control de microorganismos

ABSTRACT

Chemicals that have traditionally been used as antimicrobial in preventing biodeterioration of cultural heritage are toxic to the environment and cause adverse health and material effects. Since ancient times, extracts and essential oils of plants "biocides plant" have been used as antimicrobials in different fields. They are produced by plants as defense mechanisms, have broad spectrum activity are economic products and are biodegradable. Using environmentally friendly products is presented as a viable solution shows advantages from the standpoint of economic and environmental and ecological output proves that encourages reduced use of toxic chemicals and pollutants to the environment. The aim of this paper is to present the studies that were used "biocides plant" for the control of microorganisms involved in biodeterioration processes and that pollute the environment of archives and libraries, and cause human health problems. The "biocides plants" were obtained from various plants harvested from natural habitat of La Plata, Argentina and Havana, Cuba, and were tested against bacteria and fungi isolated from archival and library environments and materials belonging to cultural heritage. The biocidal activity was studied using the agar diffusion method. Essential oils and extracts were analyzed by gas chromatography coupled to mass spectroscopy (GC/MS). The literature has indicated that the antimicrobial activity of "biocide plants" is due to sesquiterpenes, triterpenoids, flavonoids, sterol, phenols, alkaloids, esters, coumarins, etc., Some of them are present in the products tested. The determination of zones of inhibition by the agar diffusion method showed moderate effectiveness and / or positive in most plant biocides tested.

RESUMEN

Las sustancias químicas que tradicionalmente se han utilizado como antimicrobianas en la prevención del biodeterioro del patrimonio cultural, son tóxicas para el medioambiente y producen efectos negativos sobre la salud y el material. Desde la antigüedad, los extractos y los aceites esenciales de plantas “biocidas vegetales”, han sido utilizados como antimicrobianos en distintos campos. Son producidos por las plantas como mecanismos de defensa, poseen actividad de amplio espectro, son productos económicos y son biodegradables. El utilizar productos ambientalmente amigables se presenta como una solución viable, que muestra ventajas desde el punto de vista económico y medioambiental y resulta ser una salida ecológica que propicia la disminución del uso de sustancias químicas tóxicas y contaminantes para el medioambiente. El objetivo de este trabajo es presentar los estudios en los que se emplearon “biocidas vegetales” para el control de microorganismos participantes en los procesos de biodeterioro, que contaminan los ambientes de archivos y bibliotecas, y causan problemas a la salud humana. Los “biocidas vegetales” se obtuvieron de diversas plantas cosechadas de su hábitat natural en La Plata, Argentina y en La Habana, Cuba y se probaron frente a bacterias y hongos aislados de ambientes de archivos y bibliotecas y de materiales pertenecientes al patrimonio cultural. La actividad biocida se estudió empleando el método de difusión en agar. Los extractos y aceites fueron analizados por cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectroscopia de masas (CG/EM). En la literatura se ha indicado que la actividad antimicrobiana de los “biocidas vegetales” es debida a sesquiterpenos, triterpenoides, flavonoides, esteroides, fenoles, alcaloides, ésteres, cumarinas, etc., algunos de ellos están presentes en los productos ensayados. La determinación de zonas de inhibición por el método de difusión en agar mostró diferencias en la efectividad.

INTRODUCCIÓN

El patrimonio cultural esta expuesto constantemente a la influencia del ambiente (Mandrioli *et al.*, 2003; Guiamet *et al.*, 2010, 2011). Factores físicos, químicos y biológicos interactúan con los materiales promoviendo cambios en su estructura y composición. Las alteraciones ocasionadas por los factores biológicos se conoce con el nombre de biodeterioro (Hueck, 1965). La intensidad del deterioro está en función de la composición del material, de las condiciones ambientales y el microorganismo asociado.

El biodeterioro afecta no sólo la estética de los bienes patrimoniales sino también puede producir la degradación de los mismos, lo que provoca pérdidas materiales e económicas insalvables. Por ejemplo, los documentos depositados en bibliotecas y archivos poseen la extraordinaria responsabilidad de salvaguardar para las generaciones futuras, la memoria gráfica de la nación, de allí la importancia de su protección y preservación. Por otra parte muchos microorganismos presentes en archivos y bibliotecas causan daños a la salud humana. *Aspergillus* spp. es uno de los hongos de mayor interés clínico pues posee especies que son capaces de provocar una gran cantidad de afectaciones a las personas tales como alergias de Tipo I (hipersensibilidad inmediata o rinitis alérgica seguida de ataques de asma), sinusitis, otitis, keratitis y pueden ocasionar hasta aspergilosis severas (Latgé, 1999; Gost *et al.*, 2003).

Las sustancias química que tradicionalmente se han utilizado como antimicrobianos para la prevención del biodeterioro en el patrimonio cultural, son en general sustancias tóxicas para el medioambiente y la salud humana y provocan cambios en el material en que se las aplican (Videla *et al.*, 1996; Giudice, 2003; Martinez Outeriño, 2003).

La aplicación de productos obtenidos de plantas *ambientalmente amigables* (extractos y aceites esenciales) en el control de microorganismos que participan en el biodeterioro del patrimonio cultural, se presenta como una solución viable que muestra ventajas desde el punto de vista económico y medioambiental y resulta ser una salida ecológica que propicia la disminución del uso de sustancias químicas tóxicas y contaminantes para el medioambiente. La actividad antimicrobiana se debe a la presencia de compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, aldehidos, cetonas, etc. (Heisey & Gorman, 1992; Daferera *et al.*, 2000; Marriott *et al.*, 2001; Sartorato *et al.*, 2004). Pueden actuar como reguladores del metabolismo intermedio, activar o bloquear reacciones enzimáticas, afectar directamente una síntesis enzimática o alterar estructuras de membranas (Singh & Shunkla, 1984).

Desde la antigüedad se conoce la actividad antimicrobiana de los extractos y aceites esenciales de plantas y en los últimos años, se ha renovado el interés de los científicos por el uso de estas sustancias naturales. Sin embargo, entre los muchos estudios realizados, sólo unos pocos mencionan su uso en el campo de la conservación de los bienes culturales (Chingduang *et al.*, 1995; Dhawan, 1995; Cheng *et al.*, 2003; Gatenaby & Townley, 2003; Rakotonirainy & Lavédrine, 2005; Guamet *et al.*, 2006, 2008a, 2009, 2010; Stampella *et al.*, 2010). El objetivo de este trabajo es presentar los estudios en los que se emplearon “biocidas vegetales” para el control de microorganismos participantes en los procesos de biodeterioro, que contaminan los ambientes de archivos y bibliotecas, y causan problemas a la salud humana.

METODOLOGÍA

Material vegetal. Obtención de los aceites esenciales y extractos vegetales.

Se utilizaron las siguientes plantas cosechadas de su hábitat natural (Tabla 1).

Tabla 1. Plantas utilizadas para la obtención de extractos y aceites esenciales.

Table 1. Plants used to obtain extracts and essential oils.

| Nombre científico | Familia | Nombre Vulgar |
|--|----------------|----------------|
| <i>Allium sativum</i> L. | Amaryllidaceae | Ajo |
| <i>Arctium lappa</i> L. | Asteraceae | bardana |
| <i>Artemisia</i> sp. | Asteraceae | ajenjo |
| <i>Baccharis crispa</i> Pers | Asteraceae | Carqueja |
| <i>Camellia sinensi</i> (L.) Kuntze | Theaceae | Té |
| <i>Centaurea cyanus</i> L | Asteraceae | Centaurea |
| <i>Cestrum nocturnum</i> L. | Solanaceae | Dama de noche |
| <i>Cichorium intybus</i> L. | Asteraceae | Achicoria |
| <i>Citrus sinensis</i> Osbeck | Rutaceae | Naranja |
| <i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist | Asteraceae | Coniza |
| <i>Eucalyptus citriodora</i> Hook | Myrtaceae | Eucaliptus |
| <i>Ilex paraguayensis</i> A-St. Hill | Aquifoliaceae | Yerba mate |
| <i>Laurus nobilis</i> L. | Lauraceae | Laurel |
| <i>Medicago sativa</i> L. | Fabaceae | Alfalfa |
| <i>Mentha piperita</i> L. | Lamiaceae | Menta piperita |
| <i>Mentha arvensis</i> L. | Lamiaceae | Menta |
| <i>Nerium oleander</i> L. | Apocynaceae | Laurel rosa |
| <i>Origanum x applii</i> | Lamiaceae | Oregano |
| <i>Origanum vulgare</i> | Lamiaceae | Oregano |
| <i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Fuss | Apiaceae | Perejil |
| <i>Pimpinella anisum</i> L. | Apiaceae | Anis |
| <i>Pinus caribaea</i> Morelet | Pinaceae | Pino |
| <i>Piper nigrum</i> L. | Piperaceae | Pimienta negra |
| <i>Plantago major</i> L. | Plantaginaceae | Llanten |
| <i>Syzygium aromaticum</i> L. | Myrtaceae | Clavo de olor |
| <i>Thymus vulgaris</i> L. | Lamiaceae | Tomillo |
| <i>Verbena officinalis</i> L. | Verbenaceae | Verbena |
| <i>Wedelia glauca</i> (Ortega) Hoffm | Asteraceae | Sunchillo |

Estas plantas fueron seleccionadas por su actividad antimicrobiana informada en la literatura (Cowan, 1999; Daferera *et al.* 2000; Masood *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2005; Padmini *et al.*, 2010). Las plantas se secaron en estufa a 60° C durante 24h y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su posterior macerado. Los extractos

hidroalcohólicos se obtuvieron según Guiamet *et al.* (2006). Para la obtención de los extractos y aceites se emplearon las partes aéreas de la planta. Los aceites esenciales se extrajeron del material vegetal por hidrodestilación empleando un equipo de destilación tipo *Clevenger*.

Análisis de los aceites y extractos por cromatografía gaseosa acoplada a espectroscopia de masas (CG/EM)

Los análisis CG/EM fueron realizados con un cromatógrafo gaseoso con detector de masas Perkin Elmer Clarus 500/560D. T ° horno 80 °C, Rampa 1 10 °C/min hasta 200 °C, Gas carrier Helio: 0.8 mL/min, Split 10, Tiempo de corrida 23 min. Solvent Delay 0 a 3 min, MS Scan 50 a 400.

Toma de muestras, aislamiento e identificación de los microorganismos

Las experiencias se llevaron a cabo con cepas de bacterias y hongos aisladas de soportes documentales de los depósitos del Archivo Histórico del Museo de La Plata, del Archivo del Departamento de Investigación Histórica y Cartográfica de la Dirección de Geodesia del Ministerio de Obras Públicas de la Provincia de Buenos Aires y del Archivo Nacional de la República de Cuba. Las cepas bacterianas utilizadas fueron: *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus* sp.1, *Bacillus* sp. 2, *Enterobacter agglomerans*, *Streptomyces* sp., *Staphylococcus* sp. y los hongos: *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus*, *Penicillium* sp. y *Fusarium* sp.

Las muestras se tomaron con hisopos estériles de las superficies de los documentos. Posteriormente, fueron homogeneizadas y se sembraron alícuotas en cápsulas de Petri (Madigan *et al.*, 2009) en diferentes medios de cultivo (Guiamet *et al.*, 2008b). La incubación fue de 48 a 72 h para bacterias a 28 ± 2 °C y de una semana para hongos a 28 ± 2 °C.

Ensayo de la actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y extractos vegetales se evaluó mediante la técnica de los hoyos (Trivedi & Hotchandani, 2004). Las suspensiones de las cepas bacterianas utilizadas fueron ajustadas al tubo 3 de la escala de McFarland (9×10^8 UFC.mL⁻¹) (Sartoratto *et al.*, 2004). Para los hongos, la suspensión de conidias se ajustó a 10^6 conidias/mL con una cámara de Neubauer (Araujo *et al.*, 2004) y después de las diluciones convenientes, las placas de Petri con agar Sabouraud se inocularon con 10^4 conidias.mL⁻¹. A los hoyos de 5 milímetros de diámetro, se les adicionaron 10 µL del extracto vegetal o del aceite esencial.

Para las bacterias, las cápsulas se incubaron a 28 ± 2 °C durante 24 a 72 h y para los hongos a 28 ± 2 °C durante 5 días. Luego se midieron los halos de inhibición en milímetros. El rango establecido para determinar la susceptibilidad al aceite esencial o el extracto se analizó en función del diámetro del halo (d) sin tener en cuenta el hoyo de 5 mm. Por tanto, $d < 6$ mm es indicativo de la actividad negativa, $d = 6 - 9$ mm indica una actividad moderada, $d > 9$ mm indica una actividad positiva. Los ensayos se realizaron por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La actividad de los aceites esenciales y extractos vegetales varió según el microorganismo ensayado (Tablas 2, 3 y 4). En la literatura se ha indicado que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y extractos vegetales es debida a diferentes metabolitos secundarios presentes en ellos incluyendo: triterpenoides, flavonoides, fenoles, alcaloides, cumarinas, taninos y esteroides (Cottiglia *et al.*, 2001; Wanjala *et al.*, 2002; Takahashi *et al.*, 2004; Mesa *et al.*, 2004; Kiskó & Roller, 2005; Guiamet *et al.*, 2009), algunos de los cuales están presentes en las soluciones evaluadas (Tablas 5) y el efecto antimicrobiano sobre las cepas ensayadas les sería atribuible (Guiamet *et al.*, 2009).

Se obtuvo actividad positiva con los extractos hidroalcohólicos de *Arctium lappa* L. (99%) *Arctium* sp. (70 y 99%), *Eucaliptus citriodora* Hook, *Pinus caribaea* Morelet y *Wedelia glauca* (Ortega) Hoffm (70%) frente a algunas de las cepas bacterianas analizadas (Tabla 2). El efecto antimicrobiano de *Arctium* sp. es atribuido a una lactona sesquiterpénica presente en las partes aéreas de esta planta (Lima *et al.*, 1993). Arctina y arctigenina son los principales constituyentes del fruto de *Arctium lappa* L. los cuales presentan diversas actividades biológicas y un importante número de propiedades farmacológicas (Liu *et al.*, 2010). *Eucalyptus citriodora* Hook y *Pinus caribaea* Morelet son plantas de uso tradicional en medicina por su actividad antibacteriana y antifúngica (Ramesani *et al.*, 2002). La actividad antimicrobiana del *Eucalyptus* sp. es debida a la presencia de taninos, eucaliptol y terpenos, en sus hojas (de la Paz *et al.*, 2009). Estudios realizados utilizando *Eucalyptus citriodora* Hook y *Pinus caribaea* Morelet para prevenir el biodeterioro de papeles sometidos a envejecimiento artificial

demonstraron que no hubo cambios en la apariencia de los mismos ya que la acidez de los papeles no presentó variaciones (Gómez de Saravia *et al.*, 2010). Para algunas cepas bacterianas los extractos hidroalcohólicos de *Arctium lappa* L., *Centaurea cyanus* L. *Cichorium intibus* L. y *Plantago major* L. presentaron una actividad bacteriostática (Tabla 2).

Tabla 2. Actividad antibacteriana de extractos hidroalcohólicos de plantas

Table 2. Antibacterial activity of hydroalcoholic extracts from plants

| Plantas | Microorganismos | | | | | |
|--|-----------------|------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------------|
| | | <i>B. cereus</i> | <i>B. thuringiensis</i> | <i>Bacillus</i> sp. 1 | <i>Bacillus</i> sp. 2 | <i>Staphylococcus</i> sp. |
| <i>Arctium lappa</i> L. | 70% | | 7 | 2/10* | 0 | |
| | 99% | | 16 | 2/8* | 12* | |
| <i>Arctium</i> sp. | 70% | 7 | 14 | | 15 | 0 |
| | 99% | 6 | 6 | | 11 | 0 |
| <i>Artemisia</i> sp. Hojas | 70% | | | | | 20 |
| Flores | 70% | | | | | 14 |
| <i>Baccharis crispa</i> Pers | 70% | | | 3 | | |
| | 99% | | | 4 | | |
| <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze | 70% | | | 8 | 4 | |
| <i>Centaurea cyanus</i> L | 70% | | 0 | 0/5* | 0 | |
| | 99% | | 8 | 2/8* | 12* | |
| <i>Cestrum nocturnum</i> L. | 99% | 0 | 0 | 0 | | |
| <i>Cichorium intybus</i> L. | 70% | | 0 | 10* | | |
| | 99% | | 6 | 0 | | |
| <i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist | 70% | 0 | 2 | | 3 | 0 |
| | 99% | 0 | 0 | | 3 | 0 |
| <i>Cymbopogon citratus</i> DC | 70% | | | 2 | | |
| | 99% | | | 3 | | |
| <i>Eucalyptus citriodora</i> tintura | | | 15 | 9 | | |
| <i>Ilex paraguayensis</i> | 70% | 0 | 2 | | 4 | 0 |
| | 99% | 0 | 2 | | 2 | 0 |
| <i>Medicago sativa</i> L. | 70% | | 0 | 2 | | |
| | 99% | | 0 | 0 | | |
| <i>Nerium oleander</i> L. | 70% | 4 | 5 | 10 | | |
| | 99% | 0 | 0 | 0 | | |
| <i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) | 70% | | | 2 | | |
| | 99% | | | 0 | | |
| <i>Pinus caribaea</i> Morelet | | | 13 | 6 | | |
| <i>Plantago major</i> L. | 70% | | 0 | 0 | | |
| | 99% | | 0 | 6* | | |
| <i>Verbena officinalis</i> L. | 99% | 2 | 2 | 2 | | |
| <i>Wedelia glauca</i> (Ortega) Hoffm | 70% | | | | | 22 |

*Actividad bacteriostática

Los aceites esenciales ensayados presentaron una actividad positiva en la mayoría de las cepas ensayadas (Tabla 3). La actividad antibacteriana de *Allium sativum* L. fue muy variable entre las bacterias Gram-positivas. Frente a *Bacillus thuringiensis* fue moderada y frente *Bacillus polymyxa* positiva. Esta variabilidad podría deberse a la resistencia que poseen las bacterias esporuladas (Jigna *et al.*, 2005). *Bacillus* sp. es una bacteria que puede degradar un amplio rango de sustratos dado a sus características fisiológicas (Claus & Berkeley, 1986) y la mayoría de las especies producen endosporas que son altamente resistentes a condiciones ambientales extremas, a los antibióticos, desinfectantes y otras sustancias químicas, por lo que además son fáciles de diseminar. Por otro lado, se ha reportado que durante el proceso de fabricación del papel de fotografía, el género *Bacillus* puede contaminar la gelatina que forma parte de la emulsión (Stickley, 1986). Frente a *Enterobacter agglomerans* y *Streptomyces* sp. la actividad fue positiva. La actividad antimicrobiana probablemente es debida a la alicina y el ajoeno, que son sustancias que inhiben la actividad de las enzimas tales como colinesterasa, ureasa, etc. (Davidson & Parish, 1989). La actividad antifúngica también fue marcadamente positiva.

La actividad antimicrobiana del aceite de *Pimpinella anisum* L. fue negativa frente a las especies de *Bacillus* ensayadas (Tabla 3) y solamente mostró una actividad moderada para el caso de *Enterobacter agglomerans* y *Streptomyces* sp. Resultados similares fueron obtenidos por Kivanç & Akgül (1986) y Chaudry & Tariq (2006). Entre las bacterias Gram positivas *Streptomyces* sp., se considera desde 1988 uno de los más importantes con relación a los riegos laborales (Reponen *et al.*, 2001; Hirvonen *et al.*, 2002). Los compuestos principales del Anis son el anetol y anisaldehído que poseen

propiedades anfílicas que podrían interferir con la membrana citoplasmática, las proteínas, los lípidos y otros fluidos vitales para la célula bacteriana.

Tabla 3. Actividad antibacteriana de aceites esenciales (AE)

Table 3. Antibacterial activity of essential oils (AE)

| Plantas | AE | Microorganismos | | | | | | | |
|-------------------------------|------|-----------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| | | <i>B.cereus</i> | <i>B. thuringiensis</i> | <i>Bacillus sp. 1</i> | <i>B. acillus sp. 2</i> | <i>Staphylococcus sp.</i> | <i>Bacillus polymyxa</i> | <i>Enterobacter agglomerans</i> | <i>Streptomyces sp.</i> |
| <i>Allium sativum L.</i> | puro | 4 | 8 | 0 | | | > 30 | > 30 | >30 |
| | 25% | 0 | | | | | 11 | > 30 | >30 |
| <i>Arctium lappa L.</i> | puro | | | 7 | | 8 | | | |
| | | | | | | | | | |
| <i>Citrus sinensis Osbeck</i> | puro | 0 | 0 | | | | 10 | 5 | >30 |
| | 25% | 0 | 3 | | | | 4 | 2 | 8 |
| <i>Laurus nobilis L.</i> | puro | 6 | 8 | | | | | | |
| <i>Mentha peperita L.</i> | puro | | | | | 4 | | | |
| <i>Mentha arvensis L.</i> | puro | | | | | 6 | | | |
| <i>Origanum vulgare L.</i> | puro | 18 | 17 | | | | 11 | 15 | 17 |
| | 25% | >30 | >30 | | | | 10 | 10 | 11 |
| <i>Origanum x applii</i> | puro | | | | | 13 | | | |
| <i>Pimpinella anisum L.</i> | puro | 0 | 0 | 0 | | | 5 | 6 | 6 |
| | 25% | 0 | 0 | | | | 5 | 6 | 7 |
| <i>Piper auritum Kunth</i> | 5% | | 7 | 10* | | | | | |
| | 10% | | 10 | 10* | | | | | |
| <i>Piper nigrum L.</i> | puro | 2 | 2 | 0 | | | | | |
| <i>Syzygium aromaticum L.</i> | puro | 10 | 8 | 10 | 10 | | | | |
| <i>Thymus vulgaris L.</i> | puro | 18 | 14 | 28 | 12 | | | | |
| | 70% | | | 40 | 14 | | | | |

* Actividad bacteriostática

El aceite de *Pimpinella anisum* L mostró una actividad positiva y relevante frente a todos los hongos analizados (Tabla 4) de igual forma a lo reportado por Alpsoy (2010).

Para el aceite de *Origanum vulgare* L. (Tabla 3), no se obtuvieron diferencias significativas entre las cepas de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas analizadas. Esto podría deberse a la presencia de timol, que puede actuar sobre las membranas celulares (Sartoratto *et al.*, 2004). Sin embargo, para los hongos fue efectivo e inhibió, además, la formación de conidios de todas las cepas estudiadas (Tabla 4 y Fig. 1).

Tabla 4. Actividad antifúngica de aceites esenciales

Table 4. Antifungal activity of essential oils

| Aceite esencial | Concentración en etanol | <i>Aspergillus niger</i> | <i>Aspergillus clavatus</i> | <i>Penicillium</i> sp. | <i>Fusarium</i> sp. |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------------|---------------------|
| <i>Allium sativum</i> L. | 50% | > 40 | > 40 | > 40 | > 40 |
| | 25% | > 40 | > 40 | > 40 | > 40 |
| | 7.5% | > 40 | > 40 | > 40 | > 40 |
| <i>Citrus sinensis</i> Osbeck | 50% | IE | IE | IE | IE |
| | 25% | IE | IE | IE | IE |
| | 7.5% | IE | IE | IE | IE |
| <i>Origanum vulgare</i> L. | 50% | 20* | 25* | 30* | 25* |
| | 25% | 15* | 15* | 15* | 15* |
| | 7.5% | 5 | 8 | 9 | 9 |
| <i>Pimpinella anisum</i> L. | 50% | > 40 | > 40 | > 40 | > 40 |
| | 25% | > 40 | > 40 | > 40 | > 40 |
| | 7.5% | > 40 | > 40 | > 40 | > 40 |
| <i>Syzygium aromaticum</i> | 50% | 15* | 13* | 15* | 20* |
| | 25% | 15* | 7* | 6* | 15* |
| | 7.5% | 4 | 6 | 5 | 8 |

IE: Inhiben la esporulación

*: Indica que también inhiben esporulación

La actividad antibacteriana y antifúngica del aceite de *Syzygium aromaticum* L. fue variable. La mayoría de las bacterias Gram-positivas fueron sensibles a este aceite. Con relación a los hongos, fue capaz de inhibir tanto el crecimiento como la esporulación de forma marcada a una concentración del 50% y mantuvo una efectividad relevante para *A. niger* y *Fusarium* sp. incluso a una concentración del 25 %. Resultados similares fueron reportados por otros autores para la conservación del patrimonio documental (Cheng *et al.*, 2003; Rakotonirainy & Lavédrine, 2005). *Aspergillus* spp. es uno de los hongos de mayor interés clínico pues posee especies que son capaces de provocar una gran cantidad de afectaciones a las personas tales como alergias de Tipo I (hipersensibilidad inmediata o rinitis alérgica seguida de ataques de asma), sinusitis, otitis, keratitis y pueden ocasionar hasta aspergilosis severas (Latgé, 1999; Gost *et al.*, 2003).

El aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. mostró una actividad positiva frente a las cepas de *Bacillus* ensayadas.

Tabla 5. Compuestos mayoritarios de los aceites esenciales de las plantas ensayadas.**Table 5.** Main compounds of essential oils of plants tested

| Taxon | Componentes principales |
|--|---|
| <i>Allium sativum</i> L. | Ajoene, di-2-propenil disulfido, sulfoxido |
| <i>Citrus sinensis</i> Osbeck | Limoneno, cineol |
| <i>Laurus nobilis</i> L. | Linalol, cineol |
| <i>Mentha arvensis</i> | Limoneno, terpenos |
| <i>Mentha piperita</i> | Limoneno, terpenos |
| <i>Pimpinella anisum</i> L. | Anetol, anisaldehído, terpenos |
| <i>Piper nigrum</i> L. | Terpenos |
| <i>Origanum vulgare</i> L. | Trans- β -cariofilen, timol, 2-metil-5-1-metiletil fenol, |
| <i>Origanum x applii</i> | Timol, carvacol |
| <i>Tymus vulgaris</i> L. | Terpenos, esterres, carvacol, terpenoides |
| <i>Syzygium aromaticum</i> L. | Eugenol, acetate de eugenilo, limoneno, terpenos |
| <i>Arctium lappa</i> L. | Ester, cetona, arctina |
| <i>Artemisia</i> sp. | Terpenos |
| <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze | Sulfuros, terpeno |
| <i>Centaurea cyanus</i> L. | I-docoseno, cetona, terpeno |
| <i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronquist | Terpenos |
| <i>Nerium oleander</i> L. | Terprnos |
| <i>Verbena officinalis</i> L. | Naftaleno, alcanos |

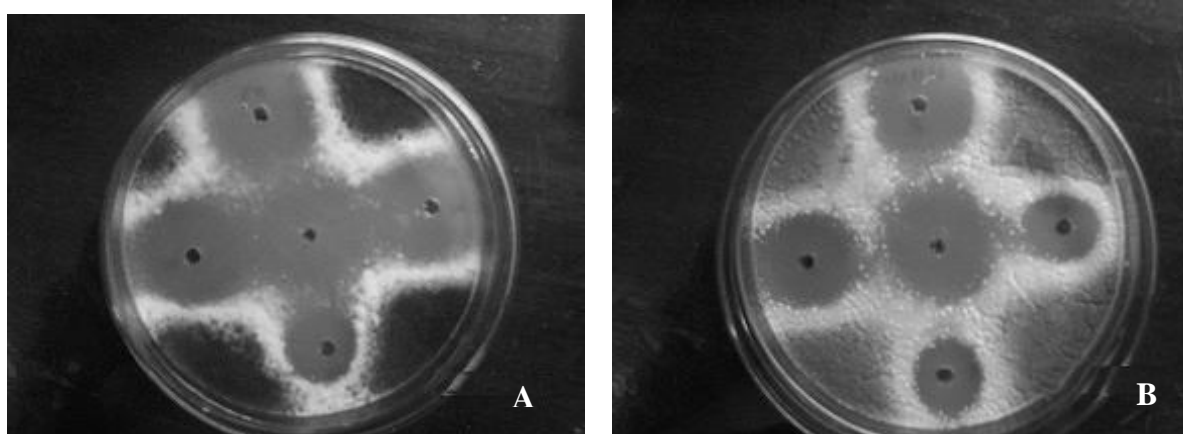


Figura 1. Halo de inhibición de crecimiento de *A. niger* (A) y *Penicillium* sp. (B) contra el aceite esencial de orégano a las cinco concentraciones estudiadas (100, 50, 25, 12,5 y 7,5 %). Además, se puede observar la inhibición de la esporulación de hongos en la zona próxima a la falta de crecimiento

Figure 1. Inhibition halo of growth of *A. niger* (A) and *Penicillium* sp (B) against oregano oil at five concentrations studied (100, 50, 25, 12.5 and 7.5%). Also, it can observe the inhibition of the fungal sporulation in the next area to the lack of growth.

CONCLUSIONES

Se observó un efecto biocida en la mayoría de los aceites esenciales ensayados frente a cepas de bacterias y hongos aisladas de documentos pertenecientes al patrimonio documental argentino y cubano.

De los resultados obtenidos se deduce el uso prometedor de estos productos ambientalmente amigables obtenidos de plantas en el control de microorganismos asociados al biodeterioro del patrimonio cultural.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alpsy L. 2010. Inhibitory effect of essential oil on aflatoxin activities. *African Journal of Biotechnology*, 9: 2474-2481
- Araujo R, Rodrigues AG & Pina-Vaz C. 2004. A fast, practical and reproducible procedure for the standardization of the cell density of an *Aspergillus* suspension. *Journal of Medical Microbiology*, 53: 783-786
- Chaudhry NM & Tariq P. 2006. Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19: 214-218
- Chingduang S, Siriacha P & Saito M. 1995. Effect of some plants and spices on growth of fungi. P143-153. En: Chiraporn Aranyanak, Chalit Singhasiri (Eds.) *Proceeding of the Third International Conference on Biodeterioration of Cultural Property, Bangkok, Thailand*. Office of Archeology and National Museums, Conservation Science Division, Bangkok: 718 p
- Chung YJ, Lee KS & Han SH. 2003. The utilization of fungicide and insecticide from medicinal plants for conservation of cultural properties. *5th Meeting of the Indoor Air Pollution Working Group*. University of East Anglia, School of Environmental Sciences Norwich. http://iaq.dk/iap/iaq2003/2003_17.htm
- Claus D & Berkeley R. 1986. The genus *Bacillus*. P 1105–1139. En: Sneath PHA, Sharpe ME & Holt JG (eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 2: 2632 p
- Cottiglia F, Loy G, Garau D, Floris C, Casu M, Pompei R & Bonsignore L. 2001. Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L. *Phytomedicine*, 8: 302-305.

- Cowan MM. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 564-82
- Daferera DJ, Ziogas BN & Polissiou MG. 2000. GC-MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants. and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chemistry*, 48: 2576-2581
- Dhawan S. 1995. Essential oil for preservation of mould growth on palm leaf manuscripts. P 272-282. En: Aranyanak C., Singhasiri C. (Eds.) *Proceeding of the Third International Conference on Biodeterioration of Cultural Property, Bangkok, Thailand*. Office of Archaeology and National Museums, Conservation Science Division, Bangkok: 718 p
- Davidson PM.& Parish ME. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology*, 43: 148-155
- de la Paz J, Larinova M, Arenas P, Battistoni P, Perez M, Guiamet P & Gómez de Saravia S. 2009. Evaluación fitoquímica de extractos naturales de *Eucalyptus citriodora* y *Pinus caribaea* con actividad biocida. *Industria & Química*, 359: 16-18
- Gatenaby S & Townley P. 2003. Preliminary research into the use of the essential oil of *Melaleuca arternifolia* (tea tree oil) in museum conservation. *AICCM Bulletin*, 28: 67-70
- Giudice C. 2003 Patrimonio cultural: limpieza, consolidación y pretratamiento con biocidas. *I Jornadas Iberoamericanas sobre Biodeterioro del Patrimonio Cultural Iberoamericano. Prevención Restauración y Preservación*. CYTED, Colombia: 14 p
- Guiamet PS, Gómez de Saravia S, Arenas P, Pérez ML, de la Paz J & Borrego SF. 2006. Natural products isolated from plants used in biodeterioration control. *Pharmacologyonline*, 3: 534-544

- Guiamet P, Battistoni P & Gómez de Saravia S. 2008a Biodeterioro dónde estás? *Desde la Patagonia. Difundiendo Saberes*, 5(7): 34-38
- Guiamet PS, de la Paz J, Arenas PM & Gómez de Saravia SG. 2008b. Differential sensitivity of *Bacillus* sp. isolated from archive materials to plant extracts. *Pharmacologyonline*, 3: 649-658
- Guiamet P, Lavin P, Battistoni P, Gómez de Saravia S, García M, Vivar I, Tiommo O, Tacoronte JE & Borrego S. 2009. Fitocomposición de aceites esenciales de plantas y su actividad biocida contra microorganismos que afectan el patrimonio cultural argentino y cubano. *XVII Simposio Nacional de Química Orgánica*, Mendoza, Argentina, p 55
- Guiamet P, Arenas P, Lavin P, Battistoni P & Gómez de Saravia S. 2010. Utilidad de extractos obtenidos de plantas en el control de microorganismos que afectan al patrimonio cultural. P 419-422. En: Pochettino ML, Ladio A & Arenas PM (Eds.), *Tradiciones y transformaciones en etnobotánica*. CYTED Programa de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, SS de Jujuy, Argentina: 561 p
- Guiamet PS, Borrego S, Lavin P, Perdomo I & Gómez de Saravia S. 2011. Biofouling and biodeterioration in materials stored at the Historical Archive of the Museum of La Plata, Argentine and at the National Archive of the Republic of Cuba. *Colloids and Surfaces: Biointerfaces*, 85: 229-234
- Gómez de Saravia S, de La Paz J, Lavin P, Battistoni P & Guiamet P. 2010. Control y prevención del biodeterioro del papel utilizando extractos naturales. P 203-208. En: Palacios OM & Vazquez C. (Eds.), *Patrimonio Cultural: la gestión el arte, la arqueología y las ciencias exactas aplicadas*. Año 2. 1ª ed. Buenos Aires. Comisión Nacional de Energía Atómica: 232 p

- Gost J, Bermejo B, Rivero M, Espatolero M, Polo I & Sínz de la Murieta J. 2003. Vigilancia y control de las infecciones originadas por gérmenes oportunistas: aspergilosis. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 23:185-19
- Heisey RM & Gorman BK. 1992. Antimicrobial effects of plant extracts on *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Trichiphyton rubrum* and other microorganisms. *Letters in Applied Microbiology*, 14: 136-139
- Hirvonen MR, Huttunen K, Jussila J, Murtoniemi T, Iivanainen E, Komulainen H, Nevalainen A & Roponen M. 2002. Bacterial strains from moldy building are highly potent inducers of inflammatory and cytotoxic effects. *Indoor Air 2002 Abstracts*: 79
- Hueck HJ. 1965. The biodeterioration of materials as a part of hydrobiology. *Mater Organismen*, 1: 5-34
- Jigna P, Rathish N & Sumitra C. 2005. Preliminary screening of some folklore medicinal plants from western India for potential antimicrobial activity. *Indian Journal of Pharmacology*, 37: 408-409
- Kiskó G & Roller S. 2005. Carvacrol and *p*-cymene inactivate *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice. *BMC Microbiology*, 5: 36
- Kivanç M & Akgül A. 1986. Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus. *Flavour and Fragrance Journal*, 1: 175–179
- Latgé J. 1999. *Aspergillus fumigatus* and aspergilosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 12: 310-350
- Lima D, João L, Veiga MC, Guimarães A & Gama ML. 1993. Antimicrobial activity plants *Porophyllum ruderale*, *Arctium lappa* and *Plantago major*. *Folha Médica*, 106: 59-62

- Liu H, Zhang Y, Sun Y, Wang X, Zhai Y, Sun Y, Sun S, Yu A, Zhang H & Wang Y. 2010. Determination of the major constituents in fruit of *Arctium lappa* L. by matrix solid-phase dispersion extraction coupled with HPLC separation and fluorescence detection. *Journal of Chromatography, B*, 878: 2707-2711
- Madigan MT, Martinko JM, Dunlap P & Clark D (Eds.) 2009. *Brock, Biology of microorganisms*. 12^a ed. Benjamin Cummings: 1168 p
- Mandrioli P, Caneva G & Sabbioni C. 2003. *Cultural Heritage and Aerobiology: methods and measurement techniques for biodeterioration monitoring*. Kluwer Academic Publisher: 258 p
- Marriot PJ, Shellie R & Cornwell Ch. 2001. Gas Chromatographic technologies for the essential oils. *Journal of Chromatography A*, 936: 1-22
- Martinez Outeriño P. 2003. Manejo integrado contra plagas. *I Jornadas Iberoamericanas sobre Biodeterioro del Patrimonio Cultural Iberoamericano. Prevención Restauración y Preservación*. CYTED, Colombia: 15 p
- Masood A, Syed-Asgha H, Mohammad Z & Abdur R. 2004. Effect of different sowing season and row spacing on seed production of fennel (*Foeniculum vulgare*). *Journal of Biological Science*, 7: 1144-1147
- Mesa AC, Bueno JG & Betancur LA. 2004. Productos naturales con actividad antimicótico. *Revista Española de Quimioterapia*, 17: 325 – 331
- Padmini E, Valarmathi A & Usha Ran M. 2010. Comparative analysis of chemical composition and antibacterial activities of *Mentha spicata* and *Camellia sinensis*. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 1(4):772-781
- Pereira JV, Bergamo DCB, Pereira JO, França SC, Pietro RCLR & Silva-Sousa YTC. 2005. Antimicrobial activity of *Arctium lappa* constituents against

- microorganisms commonly found in endodontic infections. *Brazilian Dental Journal*, 16(3): 192-196
- Rakotonirainy MS & Lavédrine B. 2005. Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 55: 141-147
 - Ramesani H, Singh H, Batish DR & Kohli RK. 2002. Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*. *Fitoterapia*, 73(3): 261-262
 - Reponen M, Toivola M, Meklin T, Ruotsalainen M, Komulainen H, Nevalainen A & Hirvonen M. 2001. Differences in inflammatory responses and cytotoxicity in RAW264.7 macrophages induced by *Streptomyces anulatus* grown on different building materials. *Indoor Air*, 11:179-84
 - Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT & Rehder VLG. 2004. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35: 275-280
 - Singh KV & Shukla NP. 1984. Activity on Multiple resistant bacteria of garlic (*Allium sativum*) extract. *Fitoterapia*, 55:313-315
 - Stampella P, Arenas PM, López A, Borrego S, Vivar I & Cabrera N. 2010. Plantas útiles en el control de insectos bibliófagos. P 416-420. En: Pochettino ML, Ladio A, Arenas PM (Eds.), *Tradiciones y transformaciones en etnobotánica*. CYTED Programa de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, SS de Jujuy, Argentina, 561 p
 - Stickley F. 1986. The biodegradation of gelatin and its problems in the photographic industry. *The Journal of Photographic Science*, 34:111–112

- Takahashi T, Kokubo R & Sakaino M. 2004. Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculate*. *Letters in Applied Microbiology*, 39: 60-64
- Trivedi NA & Hotchandani SC. 2004. Study of the antimicrobial activity of oil of *Eucalyptus*. *Indian Journal of Pharmacology*, 6: 93- 94
- Videla HA, Guiamet PS, Viera MR, Gómez de Saravia SG & Gaylarde CC. 1996. A comparison of the action of various biocides on corrosive biofilms. *Corrosion/96 NACE International*, Houston, TX, paper No. 286: 1-9
- Wanjala CC, Juma BF, Bojase G, Gashe BA & Majinda RR. 2002. Erythrinaline alkaloids and antimicrobial flavonoids from *Erythrina latissima*. *Planta Medica*, 68: 640-642