



Nacameh

Vocablo náhuatl para “carnes”

Volumen 3, Número 2, Diciembre 2009

Difusión vía Red de Computo semestral sobre Avances
en Ciencia y Tecnología de la Carne

Derechos Reservados[©] MMIX

ISSN: 2007-0373

<http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/>



Aplicación de aceite esencial de orégano mexicano (*Lippia berlanderi* Schauer) contra mesófilos aerobios y patógenos en carne de pavo^o

María Hernández González¹ ✉, Nuyén Díaz Cortés¹, Francisco Hernández Centeno¹, Ramón Silva Vázquez²

¹*Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calz. Antonio Narro 1923, Buenavista, Saltillo, Coahuila., México. 25315. Tel (844) 4110200 EXT.2009.* ²*Centro de Investigación para los Recursos Naturales. Dom. Con. Salaices, Villa López, Chihuahua, México. 33941. Tel/Fax (629) 5346023.* ✉ *Autor para correspondencia: maryhg12@yahoo.com.mx*

Resumen

En el esfuerzo por satisfacer la necesidad de alimentos más naturales, son necesarias nuevas metodologías de conservación que no alteren sus características nutritivas e inocuidad. La carne de pavo es un alimento saludable que se deteriora rápidamente por sus características fisicoquímicas. El aceite esencial de orégano contiene compuestos antimicrobianos activos, como el timol y el carvacrol, isómeros difíciles de separar. Para evaluar su capacidad antimicrobiana, se que se obtuvieron 3 fracciones con diferentes concentraciones de ellos, aplicándolos en diferentes concentraciones (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2%), a condiciones de refrigeración y temperatura ambiente. Se realizó el conteo de mesófilos aerobios a las 0, 24, 48, 72, 96, 120 h, determinando que fracción y concentración tuvo mayor inhibición. Conocida la fracción y concentración óptima contra mesófilos aerobios, se inocularon microorganismos patógenos en carne fresca de pavo (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*) a fin de determinar la actividad microabana contra éstos. La carne inoculada se monitoreó a 0, 24, 48, 72, 96, 120 h. La fracción con 27.67% Timol + 11.31% Carvacrol a 0.15% fue la que inhibió a mesófilos aerobios y patógenos (*S. typhi* > *S. aureus* > *E. coli*).

^o Recibido en Junio 2009, Revisado en Septiembre del 2009, Aceptado en Noviembre 2009.

Palabras clave: antimicrobianos, orégano, pavo, mesófilos aerobios, patógenos.

Introducción

La incipiente incorporación de la carne de pavo a la dieta en los últimos años tiene sus razones. Se trata de un alimento magro, fácil de digerir por su bajo contenido en colágeno, rico en proteínas (20 a 25%) y bajo contenido de grasa y colesterol. Es también un producto de alto rendimiento para productores y consumidores, pues por cada kilogramo de carne se obtienen 600 g de comestibles, mientras que la de pollo sólo rinde 420 g, así como su rendimiento post-producción.

México satisface su demanda interna de este producto en un 65% con producción nacional, que oscila alrededor de las 2 mil Ton mensuales de Enero a Noviembre, pero en Diciembre llega a ser de hasta 14 mil Ton, por lo que la producción nacional anual promedia las 13,840 Ton, con una tasa de crecimiento anual del 6.4% de 1994 a 2005 (SAGARPA, 2001). En el ámbito mundial, la producción de carne de pavo promedia los 4 millones de Ton, que representa el 9% de la producción mundial de carne aviar, y su producción siempre va en aumento (Secretaría de Agricultura de Argentina, 2006). Sin embargo, precisamente por las características físico-químicas de este producto, es muy susceptible de deteriorarse al ser atacado por microorganismos, al mismo tiempo que puede ser vector de enfermedades toxi-infecciosas causadas por microorganismos patógenos que ocasionarán estragos en la salud del consumidor final. Según estadísticas, las carnes en general son las responsables del 17% de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en EE.UU. y del 15% en México, de los cuales alrededor del 80% de los brotes y 90% de los casos son causados por bacterias en EE.UU y en México son responsables del 91.3% de los casos y 73.1% de los brotes (Parrilla y col., 1993).

Los blancos principales de los agentes antimicrobianos son los microorganismos productores de intoxicaciones alimentarias (agentes infecciosos y productores de toxinas) y los que alteran los alimentos, cuyos productos metabólicos finales o enzimas causan malos olores, sabores desagradables, problemas de textura, cambios de coloración o riesgo sanitario (Davidson y Zivanivic, 2003). Por lo anterior, es necesaria la

búsqueda de métodos de conservación del producto aquí mencionado, a fin de disminuir el riesgo sanitario en su consumo.

La opción de conservación usando antimicrobianos naturales es una de las que podrían resultar en mayores beneficios tanto para la calidad del alimento como para la salud del consumidor, a diferencia de los de origen sintético. En este caso, el objetivo es evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*L. berlandieri* Schauer) contra la flora aerobia y patógena contaminante en carne de pavo a través de la inoculación intencionada de microorganismos en muestras de carne en condiciones ambientales y de refrigeración y el seguimiento de la proliferación microbiana en dicha matriz, por lo que la hipótesis a comprobar será que el aceite esencial de orégano (*L. berlandieri* Schauer) es una buena opción natural para conservar la carne de pavo por su poder antimicrobiano.

Materiales y Métodos

Obtención del aceite esencial de orégano.

El aceite esencial de orégano utilizado fue extraído mediante el método de arrastre por vapor, según Sánchez (2006), y se utilizó una columna de fraccionamiento a fin de separar componentes por diferencia en puntos de ebullición. Se obtuvieron 3 fracciones de aceite esencial con diferentes contenidos de carvacrol y timol (Tabla 1). La caracterización de cada fracción se llevó a cabo por cromatografía de gases. Todo este procedimiento se llevó a cabo en el Centro de Investigación para los Recursos Naturales (CIReNa), ubicado en Salaices, López, Chihuahua, México.

Tabla 1. Composición de las tres fracciones obtenidas del aceite esencial de orégano.

Fracción	Composición
1	38.25% Carvacrol
2	77.4% Timol
3	27.67% Timol + 11.31% Carvacrol

Valoración de la actividad antimicrobiana

A fin de evaluar la capacidad inhibitoria de las tres fracciones obtenidas del aceite esencial, se procedió a su aplicación en carne fresca para su posterior almacenamiento bajo condiciones de temperatura ambiente y de refrigeración. La evaluación se realizó en función al tiempo del desarrollo microbiano siguiendo los procedimientos que se describen enseguida.

Preparación de muestras de carne y conteo de mesófilos aerobios

Se evaluaron muestras de carne de pavo, pierna y pechuga, las cuales fueron adquiridas bajo condiciones controladas en establecimientos comerciales de la ciudad de Saltillo, Coahuila. La carne fue pesada y adicionada con el aceite esencial a concentraciones de 0, 0.05, 0.1, 0.15% peso/peso de las fracciones obtenidas con diferentes proporciones de timol y carvacrol, usando como vehículo aceite vegetal comestible. Posteriormente la carne fue almacenada bajo condiciones de refrigeración (4 °C) y a temperatura ambiente (30 °C), permitiendo una inoculación natural por los microorganismos presentes en el medio ambiente de almacenamiento, simulando las condiciones de venta en el mercado. La evaluación fue en función de la flora contaminante presente en la muestra a intervalos de 0, 24, 48, 72, 96 y 120 h y el método utilizado para la cuenta total de mesófilos (SSA, 1994a). Los resultados obtenidos del conteo de mesófilos aerobios fueron analizados estadísticamente a través de un ANOVA y de t-student ($p \leq 0.05$) a fin de elucidar tanto la fracción a la cual se presenta la mayor inhibición del desarrollo microbiano, como la concentración más efectiva.

Activación de las cepas patógenas

Las cepas empleadas fueron cultivos puros, obtenidos de investigaciones anteriores en la misma Universidad, donadas entonces por el laboratorio de microbiología de la Universidad Autónoma de Coahuila. Las cepas de *E. coli* y *S. aureus* se viabilizaron mediante caldos de enriquecimiento (TCB), en tanto que para *S. typhi* se utilizó caldo tetrionato. Posteriormente todas las cepas fueron incubadas a 35 °C durante 24 horas y resembradas en el agar selectivo correspondiente. Posteriormente se realizó un estudio de la

morfología colonial macroscópica y se realizó un frotis para la observación microscópica utilizando tinción de Gram.

Inoculación de la carne de pavo con *E. coli*, *S. aureus* y *S. typhi*

Una vez determinada la fracción de aceite esencial con la mayor capacidad antimicrobiana, se continuó con la inoculación de las cepas patógenas viabilizadas sobre las muestras de carne de pavo previamente adicionada con la fracción 3 de dicho aceite en diferentes concentraciones (0.10, 0.15 y 0.20%). El inóculo promedio fue de 76×10^5 ufc/ml para *E. coli* y *S. typhi* y de 25×10^5 ufc/ml para el caso de *S. aureus*, concentraciones obtenidas por conteo en placa por el método de dilución. Las muestras inoculadas se almacenaron en condiciones de refrigeración para su posterior monitoreo en función al desarrollo microbiano a las 0, 24, 48, 72, 96 y 120 horas, utilizando las técnicas correspondientes para el caso de cada patógeno evaluado (SSA, 1994b, c y d).

Los resultados obtenidos del conteo de patógenos fueron analizados estadísticamente a través de un ANOVA y t-student ($p \leq 0.05$) a fin de evaluar el grado de inhibición obtenido para cada concentración y especie de microorganismo en estudio.

Resultados y Discusión

Determinación de la fracción de aceite esencial con mejor actividad antimicrobiana

Los resultados para la condición a temperatura ambiente se muestran en la Figura 1a y se presentan como las medias del ANOVA realizado ($p \leq 0.05$), donde es posible observar que la fracción 3 es la que presenta un efecto inhibitorio superior, al lograr conteos por debajo de los obtenidos de las fracciones 1 y 2 a las 96 y 120 h, llegando incluso a conteos por debajo de la cuenta inicial al tiempo cero. La cuenta de mesófilos aerobios en condiciones de refrigeración se muestra en la Figura 1b, y se presentan de la misma forma que para los resultados a temperatura ambiente. La fracción 3 vuelve a ser la más efectiva al reducir la cuenta microbiana muy por debajo del conteo inicial al llegar a las 120 h; la cuenta microbiana también es significativamente inferior a la lograda con las fracciones 1 y 2.

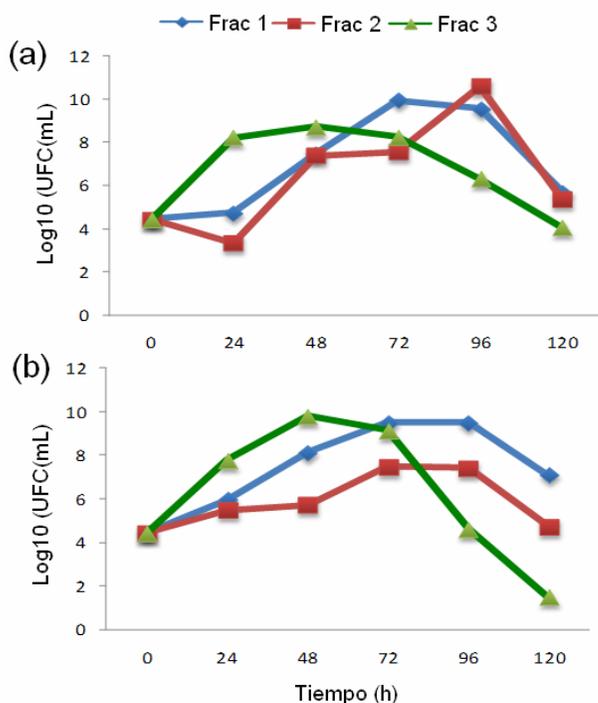


Figura 1. Efecto inhibitorio de la fracción contra crecimiento de mesófilos aerobios con respecto al tiempo a temperatura ambiente: a) 30 °C y b) 4 °C

Determinación de la concentración con mejor actividad antimicrobiana

De la misma forma que para la evaluación anterior, a continuación se muestran los resultados obtenidos de la búsqueda de la concentración óptima de la fracción 3, seleccionada como mejor en la sección anterior. En la Figura 2, los resultados demuestran que la concentración al 0.15% tiene un efecto inhibitorio superior a las demás, logrando conteos por debajo del inicial a las 120 h. Las concentraciones al 0.05 y 0.10% también logran cuentas por debajo de la inicial, pero mayores a la concentración al 0.15%. Para la condición de temperatura de refrigeración (Figura 3a), al igual que para la condición a temperatura ambiente, la concentración al 0.15% ha logrado un menor conteo al de las demás concentraciones a las 120 h. y muy por debajo del conteo inicial.

Determinación de la concentración óptima de aceite esencial en condiciones de refrigeración

Para la determinación de la concentración óptima de aceite esencial contra *Staphylococcus aureus* en condiciones de refrigeración, en la Figura 3b se observa que entre las concentraciones al 0.15 y 0.20% de fracción 3 de aceite esencial de orégano no hay diferencia significativa, son las que han logrado menores cuentas y, por tanto, un mayor porcentaje de inhibición para este patógeno en particular. Para en condiciones de refrigeración, el mayor porcentaje de inhibición se logró a las 24 h con las concentraciones al 0.15 y 0.20%, las cuales no muestran diferencias significativas (Figura 3c); sin embargo, los conteos son superiores a los logrados para *S. aureus* con las mismas concentraciones y conforme para el tiempo aumentan para luego decrecer nuevamente a partir de las 72 h, y desde este tiempo todas las concentraciones pierden significancia estadística entre sí, logrando los mismos porcentajes de inhibición.

En la determinación de la concentración óptima de aceite esencial contra *Salmonella typhi*, este patógeno resultó ser el más sensible, pues las cuentas obtenidas se redujeron a cero a las 48 h (Figura 3d) utilizando las concentraciones de 0.15 y 0.20%, las cuales no muestran diferencias significativas durante toda la corrida. Con la concentración al 0.10% también se logró una reducción a cero, pero hasta las 72 h, por lo que su efecto se consideró menos efectivo al de las dos mejores concentraciones.

Los resultados obtenidos convergen con otros trabajos realizados por Morales (2005) y De la Fuente (2006), quienes evaluaron el efecto de la aplicación de aceite esencial de orégano en carnes de res y pollo, respectivamente. También concuerdan con los obtenidos por Campomanes (2003), quien evaluó mezclas ternarias y cuaternarias de timol y carvacrol de origen sintético. En este caso, para el caso de las tres fracciones, las dosis en las cuales el efecto inhibitorio fue mayor para mesófilos aerobios han sido al 0.10 y 0.15%, ya que reducen la carga microbiana de manera considerable. Sin embargo, la fracción 3 demostró ser la mejor al obtenerse con ella las menores cuentas en las muestras analizadas. Para el caso de los patógenos, *E. coli* fue la más resistente. Para la concentración al 0.15% resultó un comportamiento muy peculiar y, según manifiesta Navarro (2007), este se debe a las defensas del microorganismo frente al

antimicrobiano, causando su muerte o su evolución y mutación. Este microorganismo presentó una disminución en su desarrollo, seguido de una duplicación de los microorganismos, terminando con la curva normal de crecimiento, pero siempre por debajo del conteo inicial. *S. aureus* presentó una disminución importante en el conteo microbiano al usar concentraciones al 0.10 y 0.20%, sin diferencia significativa entre ellas, resultado que concuerda con el obtenido por De la Fuente (2006). A diferencia de los dos patógenos anteriores, *S. typhi* fue el más sensible al aceite de orégano para las tres concentraciones utilizadas, principalmente al 0.10 y 0.20%, las cuales lograron una carga bacteriana de cero a las 48 h. Este resultado es semejante al obtenido por Morales (2005), quien recomienda el uso de una concentración superior.

Conclusión

La hipótesis planteada al inicio del presente se acepta, fundamentada en los resultados obtenidos en el estudio donde la inhibición del crecimiento microbiano es mayor utilizando la fracción 3 a concentraciones de 0.15 y 0.20% peso/peso en las muestras analizadas tanto para mesófilos aerobios como para los principales microorganismos patógenos que atacan a la carne de pavo y son causantes de ETA's en seres humanos. Por lo tanto el uso de aceite esencial de orégano, cuyo uso puede alargar la vida de anaquel de carne de pavo, se vislumbra como un antimicrobiano natural, pues conserva tanto la calidad nutrimental como la inocuidad sanitaria del alimento evaluado.

Referencias

- CAMPOMANES M., J. P. 2003. Evaluación del efecto de mezclas ternarias y cuaternarias de antimicrobianos en *Aspergillus parasiticus*. Tesis de licenciatura. Universidad de las Américas, Puebla, México.
- DE LA FUNTE E., M. P. 2006. Aplicación de aeite de orégano (*Lippia berlandieri*) en carne de pollo para su conservación. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- MORALES A., G. 2005. Aplicación del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri*) en la conservación de carne de res. Tesis de Licenciatura. UAAAN, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

- NAVARRO R. et al. 2007. Lectura interpretada del antibiograma de enterobacterias. Disponible en: http://external.doyma.es/espacio_formacion/eime/temasm2t2.pdf
- PARRILLA, et al. 1993. Técnicas tradicionales en el análisis microbiológico de los alimentos. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Puebla, México.
- SAGARPA 2001. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/csgs/comunica/boletines/2001/Diciembre/B372.htm>
- SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA [SSA] 1994a. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA [SSA] 1994b. Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnicas del número más probable.
- SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA [SSA] 1994c. Norma Oficial Mexicana NOM-115-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.
- SECRETARIA DE SALUBRIDAD Y ASISTENCIA [SSA] 1994d. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la determinación de salmonella en alimentos.
- DAVIDSON, P. M. & ZIVANIVIC, S. 2003. The use of natural antimicrobials. E: Food Preservation Techniques, Zeuthen, P.L. Bogh Sorecen (Ed), Washington, D.C., USA. Pp 29:593-627.
- SÁNCHEZ C., F. J. 2006. Extracción de aceites esenciales, experiencia colombiana. II Congreso Internacional de Plantas Medicinales y Aromáticas. Disponible en: http://sisav.valledelcauca.gov.co/CADENAS_PDF/AROMATICAS/c05.pdf, 21/09/2009