



XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO SÓLIDO DE *Origanum sp.* Y SU POSIBLE USO COMO CONSERVADOR EN UN PRODUCTO CÁRNICO

Luis Enrique Jiménez Camacho*, Ángel Alfredo Núñez Vázquez, Raquel Ortega Muñoz, Jesús Fernando Montiel Aguirre.

Depto. de Biología, Facultad de Química, C.U., U.N.A.M., Coyoacán, 04510 Ciudad de México,
enrique.p5@hotmail.com

Resumen

Las enfermedades transmitidas por los alimentos son uno de los problemas económicos y de salud pública más frecuentes en la población; la presencia de microorganismos patógenos en alimentos está considerada como una de las principales causas de enfermedades gastrointestinales. La carne puede ser frecuentemente el vehículo de tox infecciones alimentarias como consecuencia de una deficiente calidad higiénico-sanitaria. La cantidad y tipos de microorganismos presentes en un producto alimenticio puede ser utilizados para juzgar la seguridad microbiológica y calidad del producto. Por ello, ha aumentado la demanda de alimentos saludables empleando técnicas alternativas de procesamiento y conservación de alimentos. Los vegetales generan un interés creciente en los alimentos, ya que contienen compuestos activos que pueden actuar como antimicrobianos y al incorporarlos en un alimento, aumentarían la vida de almacenamiento, vida de anaquel y la seguridad alimentaria. En el presente estudio se determinó la actividad antibacteriana del extracto de tallos y hojas de la planta *Origanum sp.* empleando acetato de etilo como disolvente. Dicho extracto fue incorporado en muestras de carne molida de res con la finalidad de determinar la inhibición que puede generar en 3 grupos microbianos (bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y mohos/levaduras). Dicho análisis se realizó de acuerdo con lo estipulado en las Normas Oficiales Mexicanas. Finalmente, se obtuvo una disminución significativa en la concentración de microorganismos, corroborada por la disminución en el conteo de UFC/g de muestra y un análisis estadístico. Por lo tanto, el extracto de *Origanum sp.* podría emplearse como un conservador en algunos productos cárnicos.

Palabras clave: extracto antimicrobiano, inhibición bacteriana, conservador de alimentos

Abstract

Foodborne diseases are one of the most frequent economic and public health problem in human population. The presence of pathogenic microorganisms in food is considered one of the main causes of gastrointestinal diseases. Meat can be a vehicle for food poisoning as a consequence of poor hygienic-sanitary quality. The quantity and types of microorganisms present in a food product can be used to judge the microbiological safety and quality of the product thus, the demand for healthy foods using alternative food processing and preservation techniques has increased. Plants are generating increasing interest in food as they contain active compounds that could act as antimicrobials and their incorporation into food would increase shelf life and food safety. In the present study the



XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023



antibacterial activity of the extract of stems and leaves of *Origanum* sp. using ethyl acetate as a solvent was used. This extract was incorporated into ground beef samples to determine the inhibition, if any, it could generate in 3 microbial groups (mesophilic aerobic bacteria, total coliforms, and molds/yeasts) in accordance with the provisions of the Official Mexican Standards. A significant decrease in the concentration of microorganisms was observed as measured by the decrease in the CFU/g sample count and a statistical analysis. Therefore, the extract of *Origanum* sp. could be used as a preservative in some meat products.

Key words: Antimicrobial extract, microbial inhibition, food preserver

Introducción

Durante las últimas décadas las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) han sido uno de los problemas económicos y de salud pública que se presentan con más frecuencia en la vida cotidiana de la población. Los peligros causales de las ETA pueden provenir de las diferentes etapas que existen a lo largo de la cadena alimentaria, desde la producción primaria, hasta la mesa. Las ETA son aquellas enfermedades de carácter infeccioso o tóxico, causadas por agentes (biológicos, químicos o físicos) que penetran al organismo usando como vehículo un alimento (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud [FAO et al.], 2016).

Independientemente del origen de la contaminación, una vez que este alimento llega al consumidor puede ocurrir un impacto en la salud pública y un severo daño económico a los establecimientos dedicados a su preparación y venta (FAO et al., 2016). Aunque existe un gran avance en la limitación de la contaminación de

los alimentos por patógenos, cierta contaminación es inevitable y debe controlarse (Doyle y Beuchat, 2007). Los microorganismos están respondiendo y adaptándose constantemente a sus entornos e intervenciones en la inocuidad de los alimentos por lo que el mantenimiento de la inocuidad requiere de un esfuerzo continuo (Doyle y Beuchat, 2007). La presencia de microorganismos patógenos en el suministro de alimentos está considerada como una de las principales causas de enfermedades gastrointestinales en los Estados Unidos. Sin embargo, se desconoce el alcance exacto del problema debido a la falta de gravedad de los casos y a que solo una pequeña fracción de la gastroenteritis asociada a alimentos se informa a las autoridades médicas (Buchanan, 1986).

En los últimos años se ha generado un interés internacional por mejorar la calidad microbiológica y seguridad de los alimentos. Sin embargo, para evaluar la eficacia de cualquier estrategia es necesario conocer el estado microbiológico del producto (Vanderlinde et al, 1998.). Por ello, los criterios microbiológicos se utilizan para distinguir entre



XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

productos, prácticas de procesamiento y manipulación de alimentos aceptables e inaceptables. Cuando estos criterios se aplican adecuadamente, pueden ser un medio útil para garantizar la inocuidad y calidad de los alimentos lo que a su vez eleva la confianza del consumidor (Doyle y Beuchat, 2007).

En el caso de alimentos cárnicos se han puesto en práctica diversos programas. En Estados Unidos de América se han establecido requisitos aplicables a los establecimientos de carnes y aves para reducir la aparición y la cantidad de microorganismos patógenos en productos cárnicos y avícolas. Estos requisitos constan principalmente de la implementación de procedimientos operativos estándar de saneamiento (POE de saneamiento), pruebas microbiológicas periódicas, establecimiento de estándares de rendimiento de reducción de patógenos y la implementación de un programa de análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC) (United States Department of Agriculture [USDA], 1996). Mientras que, en México, los rastros municipales operan bajo la dirección del municipio y la Secretaría de Salud verifica los canales y sus partes mediante la aplicación de actas de verificación basadas en la normatividad vigente (Hernández et al. 2007).

La carne puede ser el vehículo de toxoinfecciones alimentarias como consecuencia de una deficiente calidad higiénico-sanitaria durante el sacrificio de los animales debido al contacto de la carne con materia fecal y polvo, o de una contaminación durante el proceso de elaboración de productos cárnicos (Hernández et al., 2007).

Existen factores intrínsecos (microbiota natural, actividad y contenido de agua, presencia de antibióticos, disponibilidad de nutrientes, pH) y extrínsecos (condiciones de almacenamiento distribución y exhibición -que consideran la temperatura y condiciones atmosféricas-) que determinan la microbiología de la carne (McDonald, 1999).

Es ampliamente documentado la participación de bacterias en el deterioro de productos cárnicos aun en bajas temperaturas. Este tipo de productos inicialmente contienen una microbiota diversa, pero al aumentar el deterioro aumenta la concentración de cierto tipo de microorganismos. (Jay et al., 2003; Ayres, 1960)

Las bacterias identificadas con mayor frecuencia en enfermedades asociadas a productos cárnicos de origen vacuno son *Salmonella spp*, *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus aureus* e incluso *Escherichia coli* O157:H7. Esta última aumentó después de uno de los brotes de intoxicación alimentaria más conocidos en Estados Unidos en 1993 (Vanderlinde et al, 1998.). Las cantidades y tipos de microorganismos presentes en un producto alimenticio puede ser utilizados para juzgar la seguridad microbiológica y calidad del producto, por lo que la seguridad está determinada por la presencia o ausencia de microorganismos patógenos o sus toxinas (Doyle y Beuchat, 2007).

Los diferentes microorganismos indicadores pueden sugerir la presencia de microorganismos patógenos y un posible origen de la contaminación microbiológica.

XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

Los microorganismos indicadores han sido utilizados en la evaluación de los procesos de plantas cárnicas incluyendo recuentos de mesófilos aerobios, coliformes totales (Brown et al., 2000; Gill et al., 1998).

El aumento de la demanda de alimentos saludables ha llevado a muchos cambios en la calidad y seguridad de los alimentos y en la conformación actual de los ingredientes y/o componentes alimentarios. Los alimentos procesados con un mínimo de aditivos y tratamiento térmico son una tendencia creciente entre los consumidores. Esto ha llevado a la explotación de técnicas alternativas de procesamiento y conservación de alimentos (Juneja et al., 2012).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud alrededor del 80% de los habitantes del planeta cubren principalmente sus necesidades de atención primaria de salud con medicamentos tradicionales, destacando el uso de plantas (Akerlele, 1993). Los productos naturales, principalmente obtenidos de plantas, se han utilizado durante mucho tiempo como fuente de agentes terapéuticos en todo el mundo y para tratar muchas enfermedades potencialmente mortales debido a infecciones bacterianas (Newman et al., 2003; Clardy y Walsh, 2004).

Las plantas son una fuente prometedora de agentes antimicrobianos con un interés creciente en los alimentos totalmente naturales o libres de aditivos y conservadores químicos (Valtierra et al., 2010). Por lo tanto, los productos derivados de plantas, como los

aceites esenciales (EO), contienen compuestos activos que pueden actuar como antimicrobianos que, al incorporarlos en un alimento, prolongarían la vida de almacenamiento, la vida de anaquel y la seguridad alimentaria y, de esta manera, reemplazar los conservadores químicos y obtener productos de etiqueta verde (Zhou et al., 2010).

Protecta One' y 'Protecta Two' son extractos de hierbas mezclados producidos por *Bavaria Corporation* en Estados Unidos y están clasificados como aditivos alimentarios. Aunque el fabricante no da a conocer los contenidos específicos de los extractos, probablemente contienen uno o más EOs (Cutter, 2000).

Los aceites esenciales (EOs) son líquidos aceitosos aromáticos obtenidos a partir de materia vegetal como las hojas, flores, ramas, semillas frutos, raíces, etc. Van de Braak (1999, como se citó en Burt, 2004) indica que el método más empleado para la producción comercial de los aceites esenciales es la destilación por arrastre de vapor.

La farmacología, la microbiología médica y clínica, la fitopatología y la conservación de alimentos son campos en los que se pueden aplicar los aceites esenciales, Sin embargo, no se ha estudiado por completo la composición química de los aceites aplicados, ya que para su análisis detallado principalmente se emplea cromatografía de gases y espectrometría de masas (Daferera et al., 2000).



XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023



La diferencia en el perfil organoléptico de un EO es evidencia de una diferencia en las sustancias que son obtenidos por extracción con un disolvente y aquellos que son obtenidos por destilación por arrastre de vapor (Burt, 2004). De acuerdo con esto, al realizar una maceración las sustancias y/o compuestos que se obtienen son aquellos que comparten la misma polaridad que el disolvente y de este último, al ser evaporado, se obtiene un extracto sólido, mientras que al realizar una destilación por arrastre de vapor se obtienen compuestos que son altamente volátiles.

Los métodos de extracción pueden influir en las propiedades antimicrobianas ya que de acuerdo con lo reportado por Packiyasothy y Kyle (2002, como se citó en Burt, 2004), los extractos de algunas plantas utilizando hexano como disolvente tienen una mayor actividad antimicrobiana que los EO obtenidos por destilación por arrastre de vapor.

Dentro de los obstáculos de la etnofarmacología para la purificación de los principios activos se incluyen el aislamiento y caracterización de moléculas bioactivas en el extracto, aislamiento de compuestos bioactivos o la estandarización de extractos de plantas. Además, el fraccionamiento de los extractos produce con frecuencia una reducción o pérdida de actividad biológica por descomposición del compuesto o pérdida de efectos sinérgicos entre los constituyentes de los extractos (Cos et al., 2006).

Teniendo en cuenta la gran cantidad de sustancias que conforman a un EOs y a un extracto, lo más probable es que su actividad antibacteriana no se deba a un mecanismo en específico, sino que existen varios mecanismos (Carson et al., 2002).

Una característica importante en los EOs es en su carácter hidrofóbico que les permite introducirse entre los lípidos de la membrana celular bacteriana, perturbando las estructuras celulares. De acuerdo a lo reportado por Carson et al. (2002), se generan lesiones que aumentan la permeabilidad de la membrana y afectan la capacidad de la membrana para osmorregular adecuadamente a la célula (pérdida de material citoplasmático). También se han sugerido mecanismos en donde los hidrocarburos (incluyendo a compuestos fenólicos) contenidos en EOs y extractos de plantas podrían actuar sobre las membranas citoplasmáticas. Estos se basan en la acumulación de estas sustancias en la bicapa lipídica y la posibilidad de ocasionar distorsiones en la interacción lípido-proteína. También es posible una interacción directa de los hidrocarburos con las secciones hidrofóbicas de las proteínas interfiriendo en la regulación o síntesis de componentes estructurales de la célula (Juven et al., 1994).

La mayoría de los investigadores necesitan la concentración mínima inhibitoria como una medida del rendimiento antibacteriano de los aceites esenciales. Sin embargo, la definición de concentración mínima inhibitoria difiere entre publicaciones y este es un

XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

obstáculo para realizar la comparación entre estudios (Burt, 2004). Por otro lado, la dosis necesaria para una actividad antimicrobiana eficaz a menudo supera la aceptación organoléptica (Juneja et al., 2012).

Objetivo general:

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto de *Origanum sp.* en carne molida de res.

Objetivos particulares

- Producir inhibición bacteriana y fúngica en carne molida de res, empleando el extracto de *Origanum sp.*
- Identificar la inhibición que genera el extracto de *Origanum sp.* en microorganismos indicadores (mesófilos aerobios y coliformes totales).
- Observar la actividad antimicrobiana de 2 concentraciones del extracto *Origanum sp.* en carne molida de res.

Materiales y Metodología:

- Preparación del extracto de *Origanum sp.*

Se realizó la selección y recolección de hojas y tallos de la planta *Origanum sp.*, la cual fue cultivada en un invernadero privado al sur de la Ciudad de México. La materia vegetal recolectada fue deshidratada durante 7 días en un lugar con ausencia de luz y humedad, con una temperatura constante de 25 °C. Posteriormente, se depositó la materia vegetal seca en un contenedor de vidrio color ámbar seguido de la adición de un litro de acetato de etilo destilado y se dejó macerar durante tres días con agitación constante. Al término de este

periodo se separó mediante filtración la materia vegetal y el extracto orgánico. Este último fue concentrado (eliminación del disolvente) mediante evaporación a presión reducida empleando el equipo Büchi Rotavapor R-114. Finalmente, el extracto concentrado se depositó en un vial de vidrio ámbar y se introdujo en un horno a 27°C durante tres días hasta llevarlo a peso constante (eliminación total del disolvente). Al extracto sólido obtenido se le aplicó un proceso de granulación para la obtención de partículas de un tamaño homogéneo.

- Evaluación de actividad antimicrobiana

Se tomó una muestra representativa de carne molida de una carnicería local (sur de la Ciudad de México). Se depositaron 10 gramos de muestra en cada una de tres bolsas de plástico estériles de cierre hermético.

A la primera bolsa se le depositó 0.1 g de extracto sólido, a la segunda se le depositó 1.0 g y a la tercera bolsa no recibió ningún tratamiento con el extracto con la finalidad de emplearlo como una muestra control. Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 4°C durante 5 días. Al término de este periodo se les realizó un análisis microbiológico de acuerdo con las Normas Oficiales Mexicanas (NOM). La preparación de las muestras se realizó conforme a la NORMA Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. A cada bolsa se adicionó un volumen de 90 mL de solución reguladora de fosfatos estéril y posteriormente se introdujeron en un homogeneizador peristáltico (Stomacher) durante 2 minutos. Se permitió la



XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

sedimentación en cada bolsa y la capa superior de la suspensión se transfirió por separado a un matraz estéril de 125 mL (dilución primaria o 10^{-1}).

Adicionalmente se prepararon 4 diluciones decimales a partir de la disolución primaria (10^{-2} a 10^{-5}); para cada dilución se transfirió 1 mL de la dilución anterior en un tubo de ensayo con 9 mL de solución amortiguadora de fosfatos estéril.

Para la evaluación de la actividad microbiológica se emplearon los métodos estipulados por la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa; Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa, y la Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

Los procedimientos de las tres normas son similares, por lo que cada análisis se realizó por duplicado y se transfirió 1 mL de las diluciones anteriormente preparadas en cajas de Petri estériles y se agregó 15 mL de su respectivo medio de cultivo; Agar tripton-glucosa-extracto de levadura (TGEA) para mesófilos aerobios, Agar Bilis Rojo Violeta (RVBA) para coliformes totales y Agar Dextrosa Papa (PDA) acidificado con ácido tartárico para mohos y levaduras.

Una vez adicionado el medio de cultivo, se homogeneizó con la muestra con 6 movimientos de izquierda a derecha, 6 de arriba abajo, 6 en sentido y 6 en sentido contrario de las manecillas de reloj. Una vez solidificado el medio de cultivo, en el caso de las cajas inoculadas para la cuenta de coliformes totales, se adicionó una sobre capa de 4 mL de RVBA.

Finalmente, los medios de cultivos inoculados fueron sometidos a incubación. En el caso de bacterias se incubaron a 37°C durante 36 horas y en el caso de mohos y levaduras se incubó a 25°C durante 5 días. Al final de este periodo se realizó el conteo de unidades formadoras (UFC).

Resultados y Discusión

De acuerdo con el análisis microbiológico realizado, se observó que el extracto de *Origanum sp.* disminuye la concentración de microorganismos en las muestras analizadas. De acuerdo a las figuras 1 – 6 (pág. 13 - 14) la inhibición de bacterias mesófilas aerobias y mohos/levaduras fue notoria a simple vista desde la dilución primaria. Sin embargo, en el caso de los coliformes totales, la inhibición únicamente fue perceptible durante el conteo de UFC en las cajas que contienen la dilución más alta, ya que de acuerdo con las figuras 7 – 12 (pág. 15 - 16) la inhibición no fue notoria a simple vista desde la dilución primaria.

XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023



Figura 1. Crecimiento de Bacterias mesofílicas aerobias en muestra control, dilución (primaria) 10^{-1} .



Figura. 2. Crecimiento de bacterias mesofílicas aerobias en muestra adicionada con 0.1 g de extracto / 10 g de muestra , dilución 10^{-1} .



Figura. 3. Crecimiento de bacterias mesofílicas aerobias en muestra adicionada con 1.0 g de extracto / 10 g de muestra , dilución 10^{-1} .

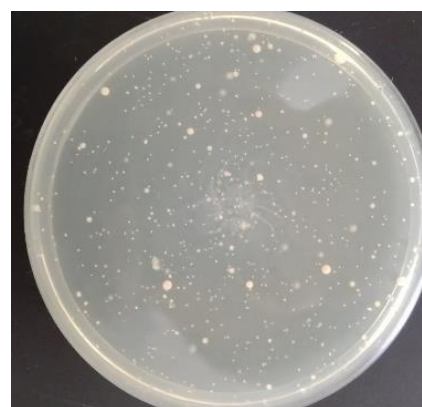


Figura 4. Crecimiento de mohos y levaduras en muestra control, dilución (primaria) 10^{-1} .

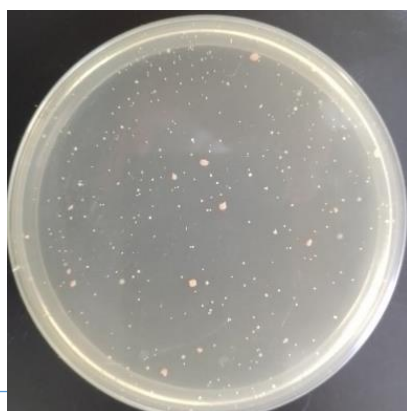


Figura 5. Crecimiento de mohos y levaduras en muestra adicionada con 0.1 g de extracto / 10 g de muestra , dilución (primaria) 10^{-1} .

XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

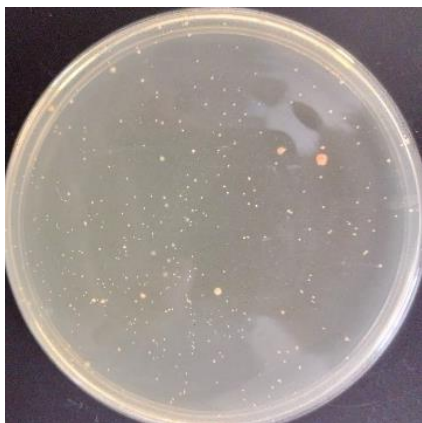


Figura 6. Crecimiento de mohos y levaduras en muestra adicionada con 1.0 g de extracto / 10 g de muestra , dilución (primaria) 10^{-1}

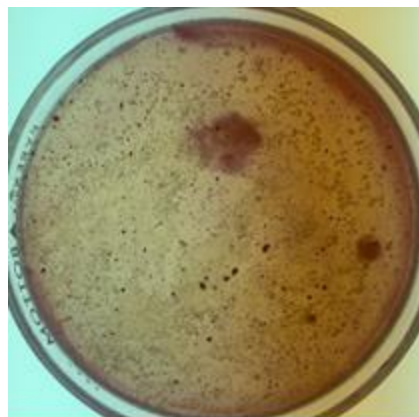


Figura 7. Crecimiento de coliformes totales en muestra control, dilución (primaria) 10^{-1} .



Figura 8. Crecimiento de coliformes totales en muestra adicionada con 0.1 g de extracto / 10 g de muestra, dilución (primaria) 10^{-1} .

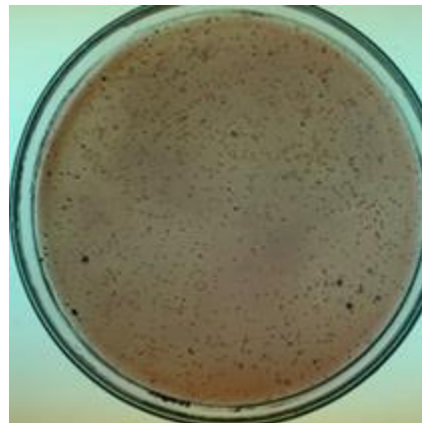


Figura 9. Crecimiento de coliformes totales en muestra adicionada con 1.0 g de extracto / 10 g de muestra, dilución (primaria) 10^{-1} .

XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023



Figura 10. Crecimiento de coliformes totales en muestra control, dilución 10^{-4} .

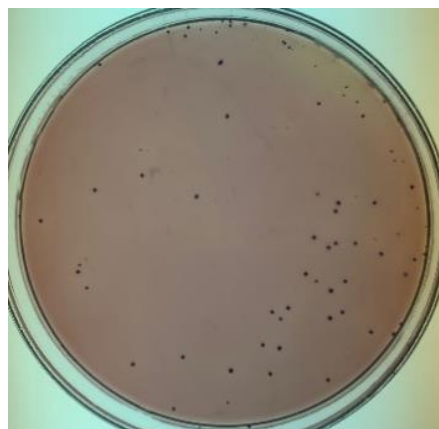


Figura 11. Crecimiento de coliformes totales en muestra adicionada con 0.1 g de extracto / 10 g de muestra, dilución 10^{-4} .

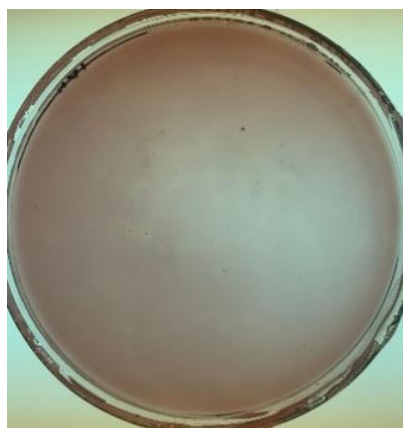


Figura 12. Crecimiento de coliformes totales en muestra adicionada con 1.0 g de extracto / 10 g de muestra, dilución 10^{-4} .

En la tabla 1 (pág.20) se registró que la concentración más alta del extracto (1.0 g de extracto / 10g de carne molida) disminuyó el orden de magnitud en la cantidad

de UFC, es decir, disminuyó la cantidad de microorganismos de millones ($>10^6$ UFC) a miles e incluso centenas ($<10^5$ UFC),

XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

Tabla 1: Concentración de bacterias mesofílicas aerobias presentes en las muestras analizadas de carne molida de res.

g de extracto / 10 g de muestra	UFC / g de muestra Coliformes totales en placa en agar bilis rojo violeta, incubadas a 35 ± 1.0 °C /36 h.	UFC / g de muestra de bacterias mesofílicas aerobias en placa de agar triptona-glucosa-extracto de levadura, incubadas a 35 ± 1.0 °C /36 h:	UFC / g de muestra de Mohos y Levaduras en placa en agar papa dextrosa acidificado incubadas a 25 ± 1.0 °C / 5 días
0	12×10^7 "valor estimado"	22×10^6	98×10^2
0.1	71×10^6 "valor estimado"	1 3×10^6	29×10^2
1	10×10^6	28×10^5	67×10^1

Por otro lado, se observó que al aumentar la concentración del extracto de *Origanum sp.*, la concentración de los 3 grupos de microorganismos analizados disminuyó significativamente. De acuerdo con el análisis estadístico mediante la prueba de Tukey (figuras 13 – 15 [pág. 17 - 18]), se determinó que la inhibición de los microorganismos provocada por la concentración más alta del extracto (1.0 g de extracto / 10 g de carne molida) es significativa con respecto a la muestra control. Sin embargo, el análisis estadístico no determinó una inhibición significativa de coliformes totales empleando la concentración más baja del extracto (0.1 g de extracto / 10g de carne

molida), es decir, que se requiere una concentración alta del extracto para generar la inhibición de este grupo microbiano y este grupo es menos susceptible (figura 13 [pág. 17]). En el caso de los mohos y levaduras, el análisis estadístico sugiere que no se produce una inhibición significativa entre las concentraciones del extracto utilizadas, pero sí con respecto al control (figura 14 [pág. 17]). Es decir, que este grupo microbiano es altamente sensible al extracto y por lo tanto solo se requiere de una concentración baja del mismo para generar inhibición, incluso una inhibición total. (figura 16 – 18 [pág. 19]).

XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación
Control	2	1194	A
0.1 g de extracto	2	713.5	A
1.0 g de extracto	2	99.5	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

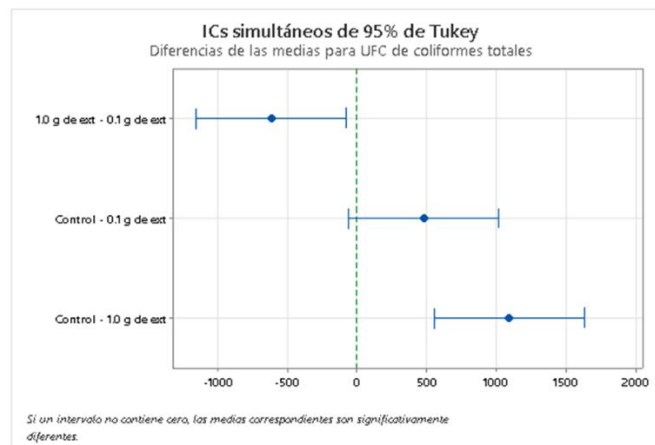


Figura 13. Comparaciones en parejas de Tukey para el análisis de coliformes totales.

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación
Control	2	98.0	A
0.1 g de extracto	2	29.0	B
1.0 g de extracto	2	4.00	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

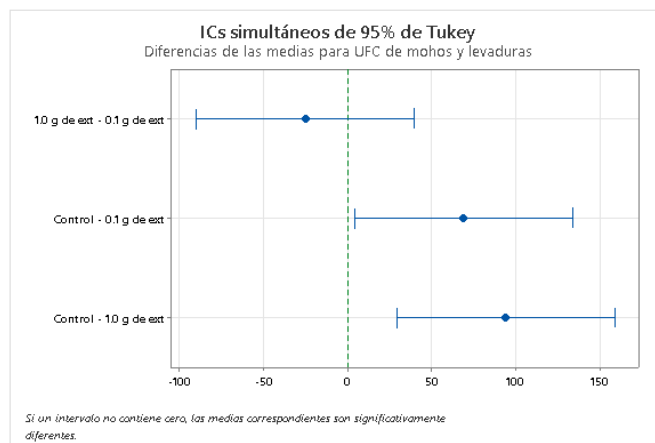


Figura 14. Comparaciones en parejas de Tukey para el análisis de mohos y levaduras.

XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Muestra	N	Media	Agrupación
Control	2	217.5	A
0,1 g de extracto	2	133.5	B
1,0 g de extracto	2	28.00	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

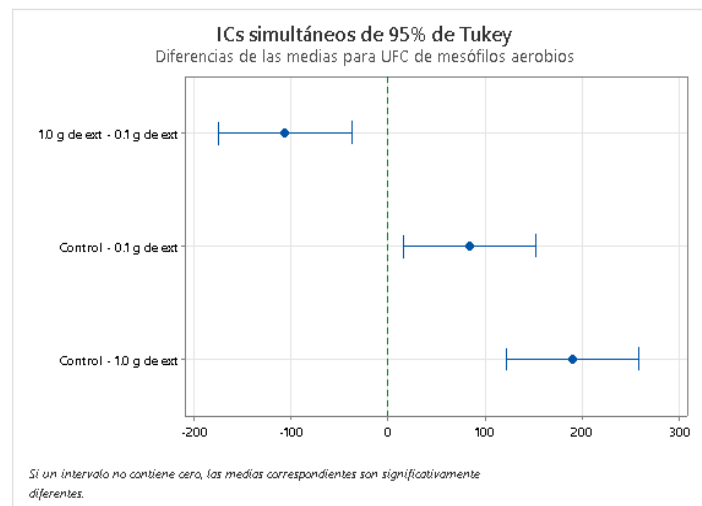


Figura 15. Comparaciones en parejas de Tukey para el análisis de mesófilos aerobios

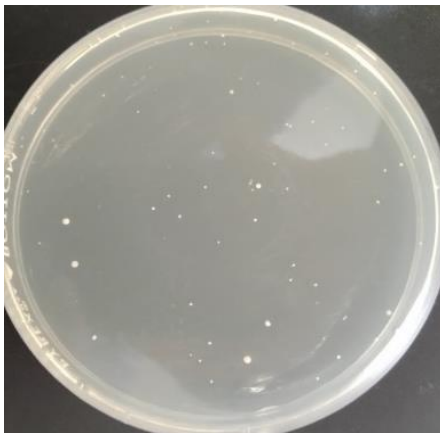


Figura 16. Crecimiento de mohos y levaduras en muestra control, dilución 10^{-3} .

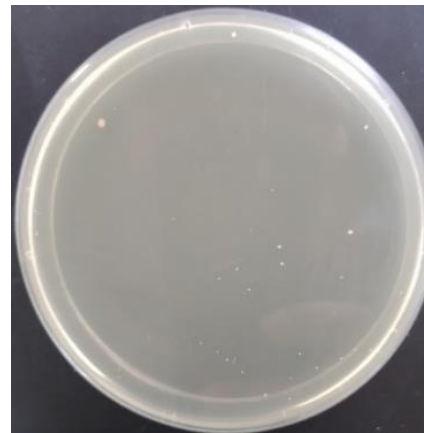


Figura 17. Crecimiento de mohos y levaduras en muestra adicionada con 0.1 g de extracto / 10 g de muestra, dilución 10^{-3} .

XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA

IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

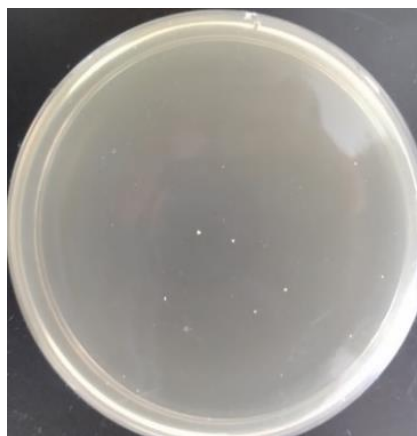


Figura 18. Crecimiento de mohos y levaduras en muestra adicionada con 1.0 g de extracto / 10 g de muestra, dilución 10^{-3} .

Finalmente, el análisis estadístico referido a las bacterias mesofílicas aerobias (figura 15 [pág.18]) indica que la inhibición provocada por la concentración más alta del extracto (1.0 g de extracto / 10g de carne molida) es significativamente mayor que la inhibición provocada por la concentración más baja del extracto (0.1 g de extracto / 10 g de carne molida).

La Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2018 establece las disposiciones y especificaciones sanitarias que deben cumplir los productos cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso. Dicha NOM indica que los productos objeto de esta Norma, deben cumplir con los siguientes límites microbiológicos: figura 19 (pág. 20).

Productos	Tipo de Microorganismos	Criterio microbiológico			
		n	c	m	M
Productos cárnicos cocidos listos para el consumo, y crudos listos para el consumo	Mesófilos aerobios*	5	3	100 UFC/g	10000 UFC/g
	<i>Escherichia coli</i>	5	3	<3 NMP/g	<10 NMP/g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Ausente en 25g	-
	<i>Salmonella</i> spp	5	0	Ausente en 25g	-
Productos cárnicos precocidos y crudos no listos para el consumo	<i>Escherichia coli</i> **	5	3	500 UFC/g	5000 UFC/g
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7***,1	5	0	Ausente en 25g	-

Figura 19. Criterios microbiológicos para productos cárnicos de acuerdo a la NOM -213-SSA1-2018



XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023



En este análisis se puede afirmar que de acuerdo con estas especificaciones de la NOM -213-SSA1-2018, inicialmente la carne tenía una mala calidad microbiológica. Sin embargo, al emplear el extracto de *Origanum sp.* se logró que la muestra de carne se aproximara al límite microbiológico máximo permitido de bacterias mesofílicas aeróbicas. Con los resultados obtenidos el extracto de *Origanum sp.* podría ser empleado como un conservador de alimentos. Sin embargo, se requieren profundizar los análisis sensoriales para que pudiera ser empleado como tal.

Durante las últimas décadas se ha generado un debate sobre el uso de antibióticos como promotores de crecimiento en animales destinados al consumo humano, ya que esta práctica promueve la resistencia en bacterias (Witte, 1998). Aunque la determinación de bacterias multiresistentes no fue un objetivo en este estudio, Jiménez et al. (2019) reportó previamente que el extracto de *Origanum sp.* es capaz de inhibir el crecimiento de bacterias multiresistentes a antibióticos como: *Klebsiella oxytoca*, *Bacillus sp.*, *Serratia marcescens* y *Acinetobacter haemolyticus*.

La complejidad de los productos naturales puede provocar un interés decreciente en la industria, por lo que de acuerdo con Cos et al. (2006) es fundamental el papel de la investigación en la exploración y evaluación prolongada de productos naturales.

Referencias

Akerele, O. (1993). Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar. Foro mundial de la salud; 14(4) : 390-395

<https://apps.who.int/iris/handle/10665/47707>

Ayres, J.C. (1960). The relationship of organisms of the genus *Pseudomonas* to the spoilage of meat, poultry and eggs. *Journal of Applied Bacteriology* 23, 471 – 486.

Brown, M.H., Gill, C.O., Hollingsworth, J., Nickelson, R., Seward, S., Sheridan, J.J., Stevenson, T., Sumner, J.L., Theno, M.D., Osborne, W.R., Zink, D. (2000). The role of microbiological testing in systems for assuring the safety of beef. *Int J Food Microbiol.* 2000 Dec 5;62(1-2):7-16. doi: 10.1016/s0168-1605(00)00408-6. PMID: 11139024.

Buchanan, R.L., Whiting, R.C., 1986. Processed meats as a microbial environment. *Food Technology.* 40. 134, 136 -138.

Burt, S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: a review. *Int J Food Microbiol.* 1;94(3):223-53. doi: 10.1016/j.jfoodmicro.2004.03.022. PMID: 15246235.

Carson, C. F., Mee, B. J., Riley, T. V. (2002). Mechanism of Action of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6), 1914–1920. doi:10.1128/AAC.46.6.1914-1920.2002.



XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

Clardy, J., Walsh, C. (2004). Lessons from natural molecules. *Nature*. 16;432(7019):829-37. doi: 10.1038/nature03194. PMID: 15602548.

Cos, P., Vlietinck, A.J., Berghe, D.V., Maes, L. (2006). Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger in vitro 'proof-of-concept'. *J Ethnopharmacol*. 19;106(3):290-302. doi: 10.1016/j.jep.2006.04.003. Epub 2006 Apr 18. PMID: 16698208.

Cutter, C.N., (2000). Antimicrobial effect of herb extracts against *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella typhimurium* associated with beef. *Journal of Food Protection* 63 (5), 601 – 607.

Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.G. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J Agric Food Chem*.48(6):2576-81. doi: 10.1021/jf990835x. PMID: 10888587.

Doyle, M.P., Beuchat, L.R. (2007). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* (3ª ed.). ASM Press, 1752 N St., N.W., Washington, DC 20036-2904, U.S.A. http://students.aiu.edu/submissions/profiles/resources/onlineBook/v2c6N6_Food_Microbiology_Fundamentals_and_Frontiers.pdf

Gill, C.O., Deslandes, B., Rahn, K., Houde, A., Bryant, J., (1998). Evaluation of the hygienic performances of

the processes for beef carcass dressing at 10 packing plants. *J. Appl. Microbiol*. 84, 1050–1058.

Hernández, S., Estrada, A., Sanchez, I., Castro, J., Roman, A., Santos, E. (2007). Condiciones microbiológicas en el proceso del sacrificio en un rastro municipal del Estado de Hidalgo, México. *Vet Méx* 2007; 38:187-195.

Jay, J.M., Vilai, J.P., Hughes, M.E. (2003). Profile and activity of the bacterial biota of ground beef held from freshness to spoilage at 5-7 degrees C. *Int J Food Microbiol*. 15;81(2):105-11. doi: 10.1016/s0168-1605(02)00189-7. PMID: 12457584.

Jiménez, L. E., Núñez, Á. A., Ortega, R., López, F. A., y Montiel, J. F. (2019). Actividad antibacteriana de extractos de plantas de uso alimentario y medicinal. Congreso Internacional “CUCCAL” “Sobre Inocuidad, Calidad Y Funcionalidad De Alimentos Y Servicios”. Sociedad Mexicana de Inocuidad y Calidad para Consumidores de Alimentos. Ciudad de México, 27 de noviembre de 2019, pág 410 - 416.

Juneja, V.K., Dwivedi, H.P., Yan, X. (2012). Novel natural food antimicrobials. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 381–403. doi:10.1146/annurev-food-022811-101241.

Juven, B.J., Kanner, J., Schved, F., Weisslowicz, H. (1994). Factors that interact with the antibacterial



XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

action of thyme essential oil and its active constituents., 76(6), 626–631. doi:10.1111/j.1365-2672.1994.tb01661.x.

McDonald, K., Sun, D.W. (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology* 52: 1-27.

Newman, D.J., Cragg, G.M., Snader, K.M. (2002). Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. *J Nat Prod*;66(7):1022-37. doi: 10.1021/np030096l. PMID: 12880330.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. (2016). Manual para manipuladores de alimentos, Alumno.
<https://www.fao.org/3/i7321s/i7321s.pdf>

Packiyasothy, E.V., Kyle, S. (2002). Antimicrobial properties of some herb essential oils. *Food Australia* 54 (9), 384 – 387. Secretaría de Gobernación, Diario Oficial de la Federación. (1994). *Norma Oficial Mexicana. NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Bacterias Aeróbicas en Placa.*
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4886029&fecha=12/12/1995#gsc.tab=0

Secretaría de Gobernación, Diario Oficial de la Federación. (1994). *NORMA Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la*

cuenta de mohos y levaduras en alimentos.

https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.tab=0

Secretaría de Gobernación, Diario Oficial de la Federación. (1994). *Norma Oficial Mexicana. NOM-113- SSA1-Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.*
http://diariooficial.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4869711&fecha=22/02/1995#gsc.tab=0

Secretaría de Gobernación, Diario Oficial de la Federación. (2018). *NORMA Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2018, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados y los establecimientos dedicados a su proceso. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.*
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5556645&fecha=03/04/2019#gsc.tab=0

United States Department of Agriculture. (1996). *Systems Pathogen reduction: Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems; Final Rule.* USA Federal Regulation.
<https://www.fsis.usda.gov/policy/federal-register-rulemaking/federal-register-rules/pathogen-reduction-hazard-analysis-and>

Valtierra, D., Heredia, N.L., García, S., Sánchez, E. (2010). Reduction of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in poultry skin by fruit extracts. *Journal of Food Protection* 73(3):477-482.



XX CONGRESO NACIONAL DE BIOTECNOLOGÍA Y BIOINGENIERÍA IXTAPA ZIHUATANEJO, GUERRERO

Del 11 al 15 de septiembre de 2023

Van de Braak, S.A.A.J., Leijten, G.C.J.J. (1999). Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, p. 116.

Vanderlinde, P.B., Shay, B., Murray, J. (1998). Microbiological quality of Australian beef carcass and frozen bulk packed beef. Food Protection Magazine, 61(4), 437–443. doi:10.4315/0362-028x-61.4.437.

Witte W. (1998) Medical consequences of antibiotic use in agriculture. Science. 13;279(5353):996-7. doi: 10.1126/science.279.5353.996. PMID: 9490487.

Zhou, G.H., XU, X.L., Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat—A review. Science. 86: 119-128.