

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

“ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos



“Microencapsulación del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer) para su aplicación en la conservación de carne de res”

POR

JUAN JOSÉ HERNÁNDEZ CENTENO

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2009

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Microencapsulación del aceite esencial del orégano (*Lippia berlandieri*
Schauer) para su aplicación en la conservación de carne de res"

TESIS

por:

JUAN JOSÉ HERNÁNDEZ CENTENO


QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

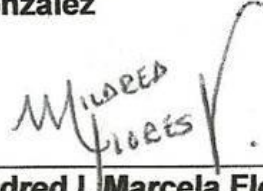
APROBADA



M.C. María Hernández González
Presidente



M.P. Francisco Hernández Centeno
Vocal



M.C. Mildred I. Marcela Flores Verástegui
Vocal



Ing. José Rodolfo Peña Oranday
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Buenvista, Saltillo, Coahuila, México
Diciembre 2009

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



COORDINACION DE
CIENCIA ANIMAL

AGRADECIMIENTOS

A mi gloriosa **UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”**, mi segunda casa durante casi 5 años, que a pesar de algunas carencias, me brindo todo lo que necesite para forjarme en lo que ahora soy, siempre llevare su lema **“ALMA TERRA MATER”** en mi corazón y ante nadie la negare.

A la **MC. María Hernández González**, por ser esa gran mujer entregada a todo lo que hace, por brindarme sus enseñanzas y sobre todo por jamás rendirse y demostrar ese gran compromiso con las personas que realmente lo valen y que están a su alrededor.

Al **MP Francisco Hernández Centeno**, por siempre mantenerse al filo de la raya, siempre muy imparcial con todos y agradecido con las personas que se lo ganan, por asesorarme y regañarme siempre.

A la **MC Mildred I. Marcela Flores Verástegui**, por brindarme sus conocimientos, regaños (cuando nos ponemos necios) y sobre todo por ser esa gran persona que siempre estuvo dispuesta a ayudarme cuando lo necesité

Al **Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos** nuestro lugar para practicar la ciencia, nuestro lugar de encuentro con amigos y algunos maestros y sobre todo por ser nuestro lugar!!!, esa pequeñita parte de la Universidad que nos brinda la oportunidad haciendo uso de él para poner en práctica lo aprendido en el salón de clase.

A la secretaria de nuestro departamento **“Dianita”**, que a pesar de sus regaños frecuentes a todos nosotros, siempre me brindo la confianza de una buena amiga, te deseo lo mejor con los dos más grandes regalos que te brindo Dios, TUS HIJOS!!!.

A mi buen amigo **TLQ Carlitos**, por brindarme siempre su amistad, ayuda cuando la necesite y conocimientos cuando los requerí. Buena suerte amigo mío y mucho éxito en tu vida.

A mis maestros y amigos laboratoristas de toda la universidad que me ayudaron a forjarme: **Dra. Ma. Lourdes Morales Caballero, Dr. Heliodoro, QFB Carmen Julia, MC Químico Reboloso, Lic. Laurita, Lic. Livas, ING Carlos Velis, Dra. Verónica, Laboratorista Cheli, Laboratorista el “Charly”, Laboratorista Maricela** en fin, a todos aquellos por lo que pase y recibí regaños y alientos a nunca rendirme.

A todos mis amigos de la licenciatura y Universidad, por todos los buenos y malos ratos que vivimos, a todos ustedes; GRACIAS!!!!!!!!!!!!.....

DEDICATORIAS

A mi padre “Dios”, por darme siempre la fuerza y por haberme permitido terminar esta parte de mi vida, una de mis más grandes metas, Dios mío en ti confié.

A mis padres:

Sra. María Juana Centeno Maldonado
Sr. Francisco Hernández García

Y a mis hermanos:

Francisco Hernández Centeno
Carlos Eduardo Hernández Centeno
Ricardo Hernández Centeno

Mis padres por su amor incondicional, siempre su apoyo y sobre todo por brindarme la vida, esta gran oportunidad de estar en este mundo y vivir cosas maravillosas a su lado, los Amo mamá y papá.

Mis hermanos **Lalo** y **Richy**, que a pesar de que gran parte de mi formación profesional no estuve al lado de ustedes, siempre los llevo en mi corazón como parte de mi apoyo y fuerza, y a Paco, sobre todo a ti carnal, gracias por nunca dejarme solo, cuidarme y brindarme lo que siempre necesité, a ti te debo mucho más que a cualquier persona que haya hecho por mí!, los amo hermanos, siempre juntos, en las buenas y en las malas como familia que somos.

A mi novia **Aglael Castro Gatica**, por ser mi apoyo, mi inspiración y por estar siempre a mi lado, mi amor, parte de mí está contigo siempre cuidándote aunque no esté ahí, te amo princesa, PARA TODA LA VIDA!!!...

A mi primo **David** (†), que a pesar de que ya no está con nosotros, este logro también te lo dedico a ti, que más que un primo fuiste mi hermano.

A mi maestro **Manuel** (†) que también se nos ha adelantado de este mundo, gran parte de mi formación gracias a él, el mejor maestro que haya conocido jamás: vaya con Dios.

A toda mi familia sin omitir a nadie, ya que todos ellos han dejado huella en mi vida, gratos recuerdos y sobre todo su apoyo, gracias!!!...

A mis amigos de toda la vida y de la carrera: **Lisandro, él Gordo (Emilio), Bubba (Víctor), Panchito, él sombra (Javier), Landin (Arturo), Susi, Gaby, Deysi, Eli, Manuel, Rocha, Felisa, Sol María, Rosa Osorio, Sra. y Sr Osorio, Sra. y Sr Avila Perez, Luigüi, Rosaura, Sandy, Brenda (cenicienta), Nely, Gaby Velázquez, Gely Velázquez, Male Velázquez, Montse, Lety, Mejia, Adolfo, Zuccoloto (creo que así se escribe), TT (Tere), Maira, la Manzana (Dolores), Bonifacio, Agustín, Alejandrina, el chino (Humberto), Ing. Briseño, Tatay** y a todas aquellas personas que no mencione sin intención alguna, Gracias!!!...

INDICE

AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIAS	iv
INDICE	v
INDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
I. INTRODUCCIÓN	xi
II. JUSTIFICACIÓN.....	14
III. OBJETIVOS.....	16
Objetivo general.....	16
Objetivos específicos.....	16
HIPÓTESIS	16
IV. REVISIÓN DE LITERATURA.....	17
4.1. Carne	17
4.1.1. Definición legal	17
4.1.1.1. Tipos de carne.....	17
4.1.2. Carne de res	18
4.1.2.1. Consumo Nacional	18
4.1.2.2. Principales estados productores	19
4.1.2.3. Consumo Internacional.....	19
4.1.2.4. Principales países productores	19
4.1.2.5. Principales países exportadores	20
4.1.2.6. Comercialización y distribución	21
4.1.2.7. Crecimiento esperado	21
4.1.2.8. Aporte nutrimental	22
4.1.3. Composición química de la carne.....	22
4.1.4. Deterioro.....	24
4.1.4.1. Físico.....	24

4.1.4.2. Químico	24
4.1.4.3. Microbiológico	25
4.1.5. Conservación.....	26
4.1.5.1. Conservadores Artificiales.....	26
4.1.5.1.1. Tipos	26
4.1.5.1.1.1. Acido sórbico y sorbatos	26
4.1.5.1.1.2. Sulfitos	27
4.1.5.1.1.3. Nitritos y nitratos	27
4.1.5.1.2. Actividad.....	28
4.1.5.1.2.1. Antimicrobiana	28
4.1.5.1.2.2. Antioxidante	28
4.1.5.1.2.3. Ventajas	28
4.1.5.1.2.4. Desventajas	28
4.1.5.2. Conservadores Naturales.....	28
4.1.5.2.1. Tipos	29
4.1.5.2.2. Actividad.....	29
4.1.5.2.2.1. Antimicrobiana	29
4.1.5.2.2.2. Antioxidante	29
4.1.5.3. Ventajas	30
4.1.5.4. Desventajas.....	30
4.2. Microorganismos en alimentos de acidez baja.....	30
4.2.1. <i>Clostridium prefringens</i> :.....	30
4.3. Orégano	31
4.3.1. Definición.....	31
4.3.2. Especies	31
4.3.3. <i>Lippia berlandieri</i> Shauer.....	31
4.3.3.1. Distribución.....	32
4.3.4. Demanda	33
4.3.4.1. Nacional	33
4.3.4.2. Internacional.....	33
4.3.5. Usos	34
4.3.6. Aplicación	34
4.3.6.1. Carne y Productos cárnicos	35
4.3.6.2. Pescado	37
4.3.6.3. Frutas y hortalizas	37

4.3.7.	Mecanismos de acción	38
4.4.	Microencapsulación de aceites esenciales	39
4.4.1.	Vehículos de aplicación	41
	Definición.- Excipiente c.b.p. ("Cuanto baste para") farmacéutico	41
4.4.2.	Interacción con el principio activo	41
4.4.2.1.	Tipos de unión (enlaces)	41
4.4.2.2.	Mecanismos de liberación y actuación de moléculas en la formación de enlaces.....	42
4.4.3.	Diferentes geles obtenidos a partir de macromoléculas	43
4.4.3.1.	Geles obtenidos por una transición sol-gel.....	43
4.4.3.2.	Geles obtenidos por reticulación covalente	43
4.4.4.	Vehículos sintéticos	43
4.4.4.1.	Tipos.....	44
4.4.4.2.	Usos	44
4.4.4.3.	Ventajas	45
4.4.4.4.	Desventajas.....	45
4.4.5.	Vehículos naturales	46
4.4.5.1.	Tipos.....	46
4.4.5.2.	Usos	46
4.4.5.3.	Ventajas	46
4.4.5.4.	Desventajas.....	46
4.5.	Oligosacaridos y polisacáridos	47
4.5.1.	Definición.....	47
4.5.2.	Tipos.....	47
4.5.2.1.	<i>Aloe vera</i>	47
4.5.2.2.	Pectina	48
4.6.	FORMACIÓN DE GELES DE PECTINA	49
4.6.1.	Geles de pectina de alto metoxilo.....	49
4.6.2.	Geles de pectina de bajo metoxilo.....	49
4.6.3.	Importancia	50
4.6.4.	Distribución	50
4.6.5.	Usos	50
4.6.6.	Formación de redes interacción con otros compuestos.....	51

V. MATERIALES Y MÉTODOS	53
5.1. Localización del sitio experimental.....	53
5.2. ETAPA 1. Definición el vehículo adecuado para la microencapsulación del aceite esencial del orégano.....	53
5.3. ETAPA 2. Obtención del gel.....	53
5.4. ETAPA 3. Aplicación de gel sobre carne de fresca de res inoculada con Clostridium perfringens y valoración del efecto antimicrobiano.	54
5.5. Preparación de muestras:	55
5.6. Preparación del testigo:.....	56
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	57
6.1. ETAPA 1. Definición, obtención y caracterización del vehículo adecuado para la microencapsulación del aceite esencial del orégano.....	57
6.2. ETAPA 2. Aplicación del gel sobre carne fresca de res inoculada con Clostridium perfringens y valoración de su efecto antimicrobiano de los tratamientos	57
VII. CONCLUSIONES.....	62
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	63
IX. ANEXOS	68

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción Nacional de Ganado Bovino 2000 – 2008 (Millones de Toneladas) ..	18
Tabla 2. Gasto de los hogares en carne de 2000-2008.....	19
Tabla 3. Producción mundial de carne de res 2004-2008 (Millones de toneladas)	20
Tabla 4. Características morfológicas orégano <i>Lippia berlandieri</i> Shauer.	32
Tabla 5. Aceites esenciales que han mostrado propiedades antimicrobianas contra microorganismos patógenos.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de participación de los países productores de ganado bovino.	21
Figura 2. <i>Lippia berlandieri</i> Schauer	32
Figura 3. Formación de la microcápsula de compuestos antimicrobianos de aceites esenciales en matriz de ciclodextrina.....	40
Figura 4. Métodos de extracción de pectina.....	48
Figura 5. Formula estructural de la pectina o ácido poligalacturónico.	49
Figura 6. Gelificación de las pectinas: (a), de bajo metoxilo mediante uniones electrostáticas con iones de calcio: (b), de alto metoxilo por puentes hidrófobos de los grupos metilo; (c) estructura tridimensional o gel de las pectinas, cuya unión (círculos) es por los mecanismos (a) o (b); los OH del ácido galacturónico quedan libres para retener agua mediante puentes de hidrógeno.....	52
Figura 7. Clostridium directo en carne.....	58
Figura 8. Clostridium directo en gel	59

RESUMEN

La conservación de alimentos es en la actualidad una práctica necesaria para eliminar microorganismos patógenos de los alimentos que alteran la salud de los consumidores, comprende el conjunto de todas las medidas para evitar su descomposición.

El principal objetivo de la presente investigación fue la de evaluar los efectos ejercidos por el aceite esencial de orégano en diferentes concentraciones (0.00, 0.05, 0.10, 0.15 y 0.25%) sobre *Clostridium perfringens* inoculado en la carne fresca de res y directo en el gel, al ser microencapsulado en una cubierta comestible a base de pectina comercial, que resultó ser más económica que los polisacáridos del *Aloe vera*, pues la extracción de este último requiere de un alto gasto de reactivos. Todo el experimento se monitoreó desde las 0, 24, 44, 96 y hasta las 120 horas realizando siembras en agar Shaedler para así realizar un conteo de UFC/gr al final de cada tiempo.

Los resultados arrojados demostraron que incluso la muestra donde se aplicó solamente el gel con 0.0% AE ejerce un efecto inhibitorio menor, pero al final positivo, en comparación con el testigo.

Para el caso del experimento donde se inoculó la bacteria directo a la carne, la concentración que mostró mayor efecto fue el gel con 0.15% AE al tiempo de las 96 hrs, sin mostrar diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$) con el gel con 0.10% AE.

Con respecto al experimento donde se inoculó la bacteria directo al gel con aceite microencapsulado, y previamente aplicado a la carne fresca de res, el que presentó mejor resultado fue el gel con 0.05% AE a las 24 hrs (que en termino de beneficio costo es lo ideal), siguiéndole el gel con 0.25% AE.

El testigo presentó un crecimiento de tipo lineal para ambos casos, manteniendo una tendencia al alza durante todo el experimento, sin llegar a una fase estacionaria. Las características organolépticas de las muestras tratadas fueron más aceptables que las del testigo. Es posible utilizar películas comestibles con aceite esencial de orégano microencapsulado para preservar del desarrollo de microorganismos anaerobios estrictos y sus efectos a la carne fresca de res.

Palabras clave: Aceite esencial, microencapsulado, *Clostridium perfringens*, carne de res, pectina.

I. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemoriales, el hombre siempre ha buscado alternativas de conservación de sus alimentos, muchos de esos métodos los han mejorado con el paso del tiempo bajo invenciones tecnológicas y desplazando la manera artesanal de hacerlo.

Los alimentos sufren cambios en su estructura, ya que todos ellos son productos perecederos, estos cambios son debido a diversos factores, encontrando como principales a los químicos, físicos y biológicos que originan la descomposición.

Esta descomposición es un fenómeno natural de los alimentos, los tejidos vivos tienen resistencia al ataque microbiano. Los tejidos vegetales o animales muertos son destruidos de diversas formas por fuerzas biológicas. Existe competencia entre el hombre, los animales y los microorganismos por el consumo de nutrientes; el prevenir la descomposición de los tejidos vegetales y animales implica un doble esfuerzo, por una parte conservar el alimento para su uso y por otra excluir las diversas formas de contaminación del alimento para su consumo en una condición máxima de nutrientes para contribuir a una buena salud (Desrosier, 1987).

Los alimentos se descomponen principalmente debido a los microorganismos, a la acción de las enzimas propias del alimento, y a la degradación química y desecación. La descomposición de un alimento depende de la composición, estructura, tipo de microorganismo involucrado y condiciones de almacenamiento del mismo.

Los microorganismos al estar en contacto con los alimentos causan su descomposición, en algunos casos puede ser deseable; pero los que causan daño a la salud humana son los llamados “patógenos”.

Las infecciones alimentarias son consecuencia de la presencia de microorganismos patógenos en alimentos que, mediante la ingestión, son capaces de causar enfermedad por la invasión del huésped o por liberación de sustancias tóxicas resultantes del crecimiento en el tracto intestinal. Las intoxicaciones alimentarias son consecuencia de la

absorción intestinal de toxinas ya presentes en los alimentos antes de su ingestión, (Desrosier, 1987), como consecuencia del crecimiento y metabolismo de sustratos por ciertos microorganismos, por todo lo anterior, este tipo de microorganismos tienen un gran impacto en lo que respecta a la salud pública.

Las infecciones o intoxicaciones originadas por el consumo de alimentos se atribuye a la presencia de ciertos microorganismos tales como *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, géneros de *Salmonella* y *Staphilococos*, *Bacillus cereus* y *Vibrio parahaemolyticus*, así como *E. coli* (Anónimo, 2009).

En investigaciones actuales de la industria farmacéutica y alimentaria, se han encontrado sustancias con actividad antimicrobiana de forma natural en muchos alimentos, entre las plantas que destacan por sus propiedades antimicrobianas son: el clavo, cebolla, mostaza, ajo, cilantro, vainilla y orégano (Campomanes, 2003). Estas plantas contienen además compuestos fenólicos los cuales son inhibidores de bacterias, virus y parásitos, y se encuentran en la parte oleaginosa de la planta por lo que es necesario extraer su aceite esencial. Existen otros compuestos obtenidos de forma sintética dentro de los cuales encontramos a los más polémicos en tanto a carne se refiere (que es el caso de la presente tesis), a sales de nitrito y nitrato, que en alimentos sometidos a asado se pueden transformar en compuestos cancerígenos denominados “nitrosaminas”, y no se autoriza su uso en la carne picada, ya que mantiene la apariencia de fresca.

La aplicación de dichos compuestos a los diversos alimentos para lograr conservar sus características visuales propias de los mismos y sobre todo sus propiedades nutrimentales así como alargar la vida de anaquel. Para lograr lo anteriormente dicho se recurre a utilizar vehículos comestibles para el transporte de estos compuestos de origen natural, en nuestro caso el orégano que en investigaciones anteriores se ha demostrado que es una planta con mínimos requerimientos para establecer su cultivo y además rica en sustancias bioactivas, debido a ello esta investigación está inspirada en la probada capacidad del aceite esencial de orégano de inhibir a ciertos microorganismos corruptores de alimentos, como alternativa para alargar la vida de anaquel de productos, como la carne, a partir de sustancias de origen natural ampliamente aceptadas con la ayuda de películas comestibles formadas de sustancias naturales accesibles por el público consumidor.

II. JUSTIFICACIÓN

A través de la historia, el consumo de carnes como alimento ha mantenido una posición prestigiosa, tanto social como económica, en la medida en que las naciones se industrializan, mejoran sus economías y el consumo de carnes aumenta. Además, mientras las personas prosperan social y económicamente, tienden a demandar una mejor calidad y cantidad de productos cárnicos (Hedrick et al., 1994).

La carne es uno de los alimentos más nutritivos para consumo humano debido a su aporte en proteínas de alto valor biológico, grasas, vitaminas y minerales (Hedrick et al., 1994), debido a lo anterior, este tipo de producto es muy susceptible de sufrir daño y descomposición microbiológica, es por eso que gran cantidad de compuestos naturales y artificiales se desarrollan para contrarrestar el efecto causado por dichos microorganismos.

La descomposición es un fenómeno natural de los alimentos, los tejidos vivos tienen resistencia al ataque microbiano. Una de las fuentes naturales de compuestos antimicrobianos son las especias, cuyas propiedades como conservadores son conocidas desde hace siglos. Existen alrededor de 1,300 tipos de plantas como fuentes potenciales de antimicrobianos, cuyos derivados pueden incluir sustancias como fitoalexinas, isotiocianatos, alicinas, pigmentos y compuestos fenólicos entre otros (Silva, 2003).

En México el uso del orégano es exclusivo como condimento alimenticio, y en poca medida medicinal; estudios realizados por la Universidad Autónoma de Chihuahua, México, han descrito las propiedades antimicrobianas del aceite esencial de orégano como fungistático y antibacterial atacando a la mayoría de bacterias patógenas (Silva, 2003).

El creciente interés por el desarrollo de películas y cubiertas comestibles para incrementar la conservación de alimentos se debe fundamentalmente a las exigencias, cada vez mayores, de abastecer al mercado con alimentos biológicamente más seguros.

EL empaque de los alimentos juega un papel importantísimo en la prolongación de su vida de anaquel, y ha ido desarrollándose a lo largo de la historia. Los materiales más socorridos para envasar alimentos son las películas sintéticas, cuyo uso ha originado una gran contaminación por su inutilidad después del uso y las materias primas necesarias para elaborarlas, principalmente derivados del petróleo. Por ello se están buscando materiales alternativos que permitan la conservación de las propiedades útiles de los alimentos, sin afectar al medio ambiente, y en este caso se recurre a las películas comestibles, generalmente utilizando biopolímeros para su construcción.

Una película comestible se define como aquella capa delgada de material comestible formada sobre un alimento como un recubrimiento, o colocada (lo que implica que debe ser pre-formada) sobre o entre los componentes de los alimentos. Su propósito es el de inhibir o reducir la migración de humedad, oxígeno, dióxido de carbono, aromas, lípidos, pigmentos, etc.; servir como vehículo para aditivos alimentarios (antioxidantes, antimicrobianos, saborizantes, colorantes); y/o mejorar la integridad mecánica o características de manejo del alimento en cuestión. En algunos casos las películas comestibles con buenas propiedades mecánicas pueden llegar a sustituir las películas de empaque sintéticas (Krochta y De Mulder-Johnston (1997)).

III. OBJETIVOS

Objetivo general

Probar la efectividad antimicrobiana del aceite esencial del orégano (*L. berlandieri Schauer*) microencapsulado en una película comestible aplicada en carne de res.

Objetivos específicos

- Definir el vehículo adecuado para la microencapsulación del aceite esencial del orégano.
- Obtener la película-vehículo y caracterizarla.
- Aplicar sobre carne de res fresca y valorar su efecto antimicrobiano.
- Aplicar sobre carne de res inoculada con *Clostridium perfringes* y valorar su efecto antimicrobiano.

HIPÓTESIS

El aceite esencial del orégano mantiene su efectividad antimicrobiana al ser microencapsulado en una película comestible para su aplicación en carne de res.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Carne

4.1.1. Definición legal

El término carne se utiliza con distintos significados. De acuerdo con las disposiciones legales sobre inspección de la carnes es, por una parte, una expresión muy amplia, que comprende todas las porciones de la canal que sirven para consumo humano, y frecuentemente también los alimentos elaborados a partir de las mismas; por otra parte, se limita a aquellos géneros y especies que son objeto de inspección legal. La concepción más amplia del término "carne" se encuentra en las directrices que, sobre carne y productos cárnicos, se hallan contenidas en el Código Alimentario alemán, en el que se entiende por carne todas las porciones de los animales de sangre caliente destinadas a consumo humano. Esta definición se completa con lo que debe comprenderse por carne según la Orden Oficial y el Decreto de Tipificación de Alimentos de la República Federal de Alemania (Prändl et al., 1994) y con lo referido en la norma mexicana NMX-FF-081-SCOFI-2003 que define a la carne como "los tejidos muscular, conjuntivo y elástico, grasa, vasos linfáticos y sanguíneos, nervios, etc., que constituyen las masas musculares que cubren el esqueleto del animal".

4.1.1.1. Tipos de carne

El término "carne roja" o "carne blanca" es una definición culinaria que menciona el color (rojo o rosado, así como blanco) de algunas carnes en estado crudo.

Carnes Rojas: suelen provenir de animales adultos. Por ejemplo: la carne de Vacuno (carne de vaca), la carne de cerdo, la carne de ternera y la carne de buey.

Se consideran igualmente carnes rojas la carne de caballo y la de ovino. Desde el punto de vista nutricional se llama carne roja a "toda aquella que procede de mamíferos". El consumo de este tipo de carne es muy elevado en los países desarrollados y representa el 20% de la ingesta calórica.

Se asocia a la aparición del cáncer en adultos que consumen cantidades relativamente altas.

Carnes Blancas: Se denomina así como contraposición a las carnes rojas. En general se puede decir que es la carne de las aves (existen excepciones como la carne de avestruz). Algunos de los casos dentro de esta categoría son la carne de pollo, la carne de conejo y a veces se incluye el pescado. Desde el punto de vista de la nutrición se llama carne blanca a "toda aquella que no procede de mamíferos.

El término "carne roja" o "carne blanca" es una definición culinaria que menciona el color (rojo o rosado, así como blanco) de algunas carnes en estado crudo.

El color de la carne se debe principalmente a un pigmento rojo denominado mioglobina. Esta clasificación está sujeta a numerosas excepciones (Anónimo, 2008).

4.1.2. Carne de res

4.1.2.1. Consumo Nacional

De acuerdo con la información proporcionada por el SIAP en la tabla 1, la producción nacional de ganado bovino ha mostrado una tendencia creciente, desde el año 2000, presentando una TMAC, en el periodo 2000-2007, del 1.89% para el ganado bovino en pie, y del 2.12%, en el periodo 2000-2008 para el ganado bovino en canal.

Tabla 1. **Producción Nacional de Ganado Bovino 2000 – 2008 (Millones de Toneladas)**

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	TMAC
Pie	2.71	2.75	2.81	2.86	2.9	2.9	3.03	3.09	N/D	1.89%
Canal	1.41	1.44	1.47	1.5	1.54	1.56	1.61	1.64	1.67	2.12%

(Financiera Rural, 2009)

De acuerdo con los datos de La Encuesta Nacional de Ingresos y Gastos en los Hogares que publica INEGI, del total del gasto destinado para la compra de las carnes enlistadas en la tabla 2 la de res ocupa el primer lugar (FINANCIERA RURAL, 2009)

Tabla 2. **Gasto de los hogares en carne de 2000-2008**

	2000	2002	2004	2006
Res y Ternera	\$ 9, 484.00	\$ 10, 173.70	\$ 10, 971.91	\$ 11, 782. 10
Puerco	\$ 2, 303.00	\$ 7, 561.22	\$ 2, 978.04	\$ 3, 170. 24
Aves	\$ 5, 785.03	\$ 6, 969.45	\$ 8, 005.05	\$ 10, 023.32
Otra carnes	\$ 3, 791.70	\$42.37	\$ 5, 725. 73	\$ 5, 250.77
Pescado y maticos	\$ 2, 291.50	\$ 2, 628.50	\$ 2, 947.46	\$ 3, 464.75

(Financiera Rural, 2009)

4.1.2.2. Principales estados productores

De acuerdo con información del SIAP, Veracruz es el principal estado productor de ganado bovino en México con un volumen de producción de 0.44 millones de toneladas, esto representa el 14.2% de la producción nacional. Jalisco es el segundo productor con una participación del 11.3% (0.35 millones de toneladas). Chiapas, ocupa el tercer lugar, aportando un volumen de 0.19 millones de toneladas (6.3% de la participación en la producción nacional). (FINANCIERA RURAL, 2009)

4.1.2.3. Consumo Internacional

Según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés), la producción mundial de ganado bovino (carne de res) aumentó con respecto al 2007, al cierre de 2008 se estimó una producción de 59.25 millones de toneladas, este incremento fue de 0.26 millones. Con respecto al año 2004, la producción se incrementó en 6.6%, dicho incremento ha sido proporcional a la demanda por este producto (FINANCIERA RURAL, 2009).

4.1.2.4. Principales países productores

Datos proporcionados por el USDA en la tabla 3 reporta que los Estados Unidos, Brasil, la Unión Europea, China y Argentina, son los principales países productores de ganado bovino a nivel internacional.

Tabla 3. **Producción mundial de carne de res 2004-2008 (Millones de toneladas)**

	2004	2005	2006	2007	2008
EUA	11.26	11.32	11.98	12.1	12.23
Brasil	7.98	8.59	9.03	9.3	9.21
Unión Europea	8.25	8.09	8.15	8.2	8.22
China	5.6	5.68	5.77	6.13	6.26
Argentina	3.13	3.2	3.1	3.3	3.2
México	2.1	2.13	2.18	2.17	2.25
Australia	2.08	2.1	2.18	2.17	2.1
Federación Rusa	1.59	1.53	1.43	1.37	1.33
Canadá	1.5	1.52	1.39	1.28	1.27
Paquistán	0.98	1.01	1.06	1.09	1.12
Otros	8.99	9.26	9.52	9.34	9.41

(Financiera Rural, 2009)

4.1.2.5. Principales países exportadores

En 2008 como se muestra en la figura 1, las importaciones y exportaciones mundiales se ubicaron en 6.75 y 7.72 millones de toneladas respectivamente. Brasil, como principal país exportador, para fines del 2008 reportó un volumen de 1.92 millones de toneladas (FINANCIERA RURAL, 2009).

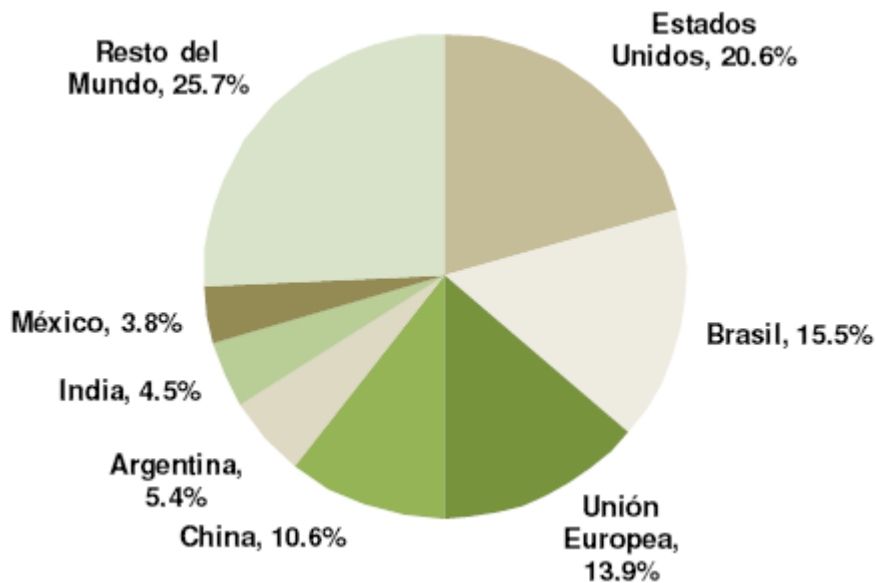


Figura 1. Porcentaje de participación de los países productores de ganado bovino.

4.1.2.6. Comercialización y distribución

El 60% de la carne producida en México se comercializa en forma de canal caliente (sin congelar), lo que afecta la calidad e inocuidad para el consumidor. El resto se realiza por otros canales donde la calidad es superior.

La distribución de la carne de origen nacional se realiza principalmente por intermediarios que adquieren su mercancía en rastros municipales o clandestinos y en menor proporción, a través de las cadenas de tiendas de autoservicio, que son abastecidas por plantas con certificación de tipo de Inspección Federal (TIF) (FINANCIERA RURAL, 2009).

4.1.2.7. Crecimiento esperado

Los precios físicos y futuros en los contratos del ganado bovino, han registrado una tendencia a la baja desde el último trimestre del 2008.

El precio físico al finalizar el 2008 cerró en \$2,220 dólares por tonelada. El contrato de futuros más cercano (Abril) reporta un precio de \$1,911.41 y el contrato con vencimiento en Junio \$1,854.53 dólares por tonelada.

En comparación al cierre del pasado 30 de Diciembre (\$2,220 dólares por tonelada), el precio físico cerró el pasado 27 de marzo en \$2,392.01 El precio más alto se registro el 22 de Noviembre del 2008 alcanzado un precio de \$3,180 dólares por tonelada (FINANCIERA RURAL, 2009).

4.1.2.8. Aporte nutrimental

La carne ocupa un lugar privilegiado frente a otros alimentos de origen animal como la leche, el queso, los huevos y el pescado. La carne es ante todo una valiosa fuente de proteínas, aunque desde un punto de vista nutritivo es también notable su contenido en lípidos, minerales y vitaminas. Desde esta misma perspectiva cabe añadir su relativa importancia como fuente de energía (Prändl et al., 1994).

4.1.3. Composición química de la carne

La composición química del tejido muscular del bovino, libre de grasa subcutánea, consiste de agua (65-80%), proteína (16-22%), lípidos (1.5-13%), carbohidratos (0.5-1.5%) y cenizas (1%) (Forrest et al., 1979; Fenemma, 1996), pero son muchos los factores que afectan esta composición, particularmente la alimentación y la genética de los animales (Forrest et al. 1979; Fenemma, 1996; Serra et al., 2004).

El agua es el componente principal de los líquidos extracelulares y ella se encuentra disueltos o suspendidos numerosos componentes químicos; por ello sirve como medio de transporte de nutrientes entre el lecho vascular y las fibras musculares. Las proteínas son el componente principal de la materia solida de estas últimas. Generalmente se clasifican atendiendo fundamentalmente la solubilidad en: sarcoplásmicas (mioglobina, hemoglobina y enzimas asociadas a la glucólisis, al ciclo del ácido cítrico y a la cadena transportadora de electrones), miofibrilares (entre otras, actina, miosina, tropomiosina, troponina, actinas y alfa y beta proteína C y proteína M) y el estroma (constituyentes del tejido conectivo y proteínas fibrilares asociadas, que son comparativamente insolubles). En el músculo se encuentran, además de las proteínas, otros componentes nitrogenados no proteicos, tales como aminoácidos, péptidos sencillos, creatina, fosfato de creatina, cretinina, algunas vitaminas, nucleósidos y nucleótidos, incluido el adenosintrifosfato (ATP). La composición lipídica de la carne se puede dividir en lípidos del tejido muscular y los propios del tejido

adiposo. Los primeros se depositan en dos compartimentos diferentes. Algunos lípidos lo hacen dentro de la fibra muscular (intracelulares), pero la mayoría se encuentra en el tejido adiposo asociado a los septos del tejido conectivo laxo que se encuentra entre los haces musculares; este último tipo de depósito graso se le conoce como veteado, marmoleo o “marbling”. El conjunto de de ambos compartimentos constituye la grasa intramuscular (Forrest et al., 1979). En general se considera que los lípidos del músculo (grasa intramuscular) tiene un grado de insaturación que los del tejido adiposo (Piironen et al., 2002). Por otra parte, la oxidación de los ácidos grasos altamente insaturados que se encuentran en la membrana de la fibra muscular puede ser muy importante en algunas de las reacciones de deterioro de la carne (Fenemma, 1996).

El colesterol es el esteroles más abundante en los tejidos animales y se sintetiza a partir de acetil-coenzima A, siendo el hígado el principal lugar de síntesis (Stryer, 1988). Así como sucede con la totalidad de los lípidos del plasma sanguíneo, el colesterol se encuentra asociado con proteínas formando complejos lipoprotéicos que aseguran su transporte. Su metabolismo incluye la producción de ácidos biliares y de hormonas esteroideas, tales como la progesterona, testosterona, estradiol y cortisol (Stryer, 1988), o es precursor de vitamina D. Su excreción se realiza principalmente como esteroles en la bilis (Aranda, et al., 2002), El contenido promedio de colesterol de la carne fluctúa entre 70 y 75 mg/100g por debajo del que se considera no deseable para el hombre (Fenemma, 1996). Se requiere ingerir 400 g de carne bovina al día para alcanzar el límite máximo de 300 mg recomendado por los dietistas (Jiménez, 2002).

La grasa es una excelente fuente de energía, para los primeros cazadores o pobladores mundo éste fue un atributo muy valorado de la carne, particularmente la de los mamíferos. En la actualidad, los hábitos alimenticios de los humanos han cambiado y, en muchos de los países económicamente desarrollados, se estimula la reducción en la ingestión de grasa animal. Desde el punto de vista de salud humana una dieta alta en grasa se considera indeseable, principalmente su vínculo con el colesterol y su asociación con enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, este énfasis se ha modificado a la luz de estudios recientes en los que destaca la importancia de la composición o tipo de grasa más que la cantidad (Warris, 2000).

El contenido de carbohidratos de la carne es muy bajo y el del glucógeno, que es el carbohidrato del músculo más importante, fluctúa entre 0.5 y 1.3%. Los carbohidratos restantes son mucopolisacáridos asociados al tejido conectivo, glucosa, otros mono y disacáridos y los intermediarios del metabolismo glucolítico (Aberle et al., 2001).

La carne tiene una importante fuente de vitaminas del complejo B o particularmente tiamina, niacina, riboflavina, piridoxina y cianocobalamina. También es una fuente de vitamina A cuyo contenido es mayor que las de otras vitaminas liposolubles. La carne es rica en hierro, cobre zinc y selenio. El hierro en la carne tiene alta biodisponibilidad y se encuentra asociado a la proteína mioglobina. Esta proteína es la que provee oxígeno y le da el color al tejido muscular rojo. Por su contenido en hierro de alta disponibilidad, la carne se considera una fuente inestimable de este material en la dieta humana (Pearson y Gillet , 1999). La deficiencia de hierro es la más común en el mundo (Warris, 2000). La carne es relativamente pobre en calcio (con aproximadamente 100 mg/100 g) y contiene generalmente 60 a 90 mg de sodio y 300 mg de potasio/100 g de carne fresca. Como los minerales y la vitaminas solubles del complejo B están presentes en la porción de carne magra de la carne, su concentración varía dependiendo de la cantidad de tejido graso y hueso de cada pieza de carne así como el proceso de cocción (Fenemma, 1996).

4.1.4. Deterioro

4.1.4.1. Físico

La pérdida de humedad es uno de los puntos más importantes asociados con el deterioro físico de carne fresca. Pérdida de humedad puede dar como resultado un enrojecimiento y oscurecimiento de la superficie de la carne (Salas, 2009).

4.1.4.2. Químico

El más importante factor en la apariencia de la carne es el color. Esto es particularmente verdadero para la carne pre-empacada. El color rojo púrpura del corte de una carne fresca es debido al pigmento conocido como mioglobina, el cual es relacionado a la hemoglobina de la sangre. La diferencia en el color de la superficie de la carne viene de los cambios químicos del pigmento.

En la exposición al aire, una molécula de oxígeno es añadida directamente a la porción de fierro de la mioglobina, produciendo oximioglobina, el cual tiene un color rojo brillante. Este color es muy rápidamente formado y es aceptado como el más deseable color de la carne en un no-empacado y pre-empacado, carne fresca cuando el color rojo de la superficie de la carne es expuesta al aire, otra reacción ocurre y forma un pigmento marrón (metamioglobina), que caracteriza a las carnes añejas o viejas. La velocidad de desarrollo de la metamioglobina depende de:

1. La temperatura (a más alta la temperatura, más rápida la reacción).
2. El pH de la carne (a más alto pH de carne más negras).
3. Acelerado por deterioro bacteriano (Salas, 2009).

4.1.4.3. Microbiológico

Condiciones bacteriológicas.- Las carnes que no son empacadas y las empacadas son igualmente perecederas y sensibles al ataque de microorganismos. La velocidad a la cual las bacterias crecen sobre la superficie de la carne dependerá del tipo de microorganismo, la temperatura y la naturaleza de la atmósfera de almacenamiento bajo condiciones aeróbicas las bacterias pueden causar:

Viscosidad sobre la superficie.- la temperatura y la humedad disponible influyen en la clase de microorganismo hallado).

Cambios en el color de los pigmentos de la carne.- el color rojo puede cambiar a manchas verdes, marrón o gris como resultado de los compuestos oxidados.

Cambios en las grasas.- la oxidación de grasas no saturadas en la carne toma lugar químicamente en el aire, y las bacterias pueden también causar rompimiento o acelerar la oxidación de las grasas.

Fosforescencia.- Poco común, efecto causado por bacterias fosforescentes o luminosas.

Sabores y olores desagradables.- Causada como resultado del crecimiento de bacterias sobre la superficie y a la producción de ácidos volátiles. Bajo condiciones aeróbicas,

levaduras y mohos podrían crecer sobre la superficie de la carne para causar una superficie viscosa, pegajosa, olores y sabores desagradables y decoloración. Parte de la superficie deteriorada por levaduras y mohos son localizadas comúnmente y pueden ser separadas sin malograr el resto de la carne.

Bajo condiciones anaeróbicas el deterioro es debido a:

Acidez.- Dando un olor ácido y algunas veces el sabor causado por ácidos los cuales pueden resultar de la acción de las enzimas en la carne durante el proceso de maduración o añejamiento anaeróbico producción de ácidos grasos o ácido láctico por bacterias, rompimiento de las proteínas sin putrefacción.

Putrefacción.- Anaeróbica descomposición de proteínas de microorganismos con la producción de compuestos u olores indeseables. Sabores y olores desagradables por putrefacción cerca a los huesos (Salas, 2009).

4.1.5. Conservación

4.1.5.1. Conservadores Artificiales

Son compuestos que no se encuentran presentes en la naturaleza y que son sintetizados en laboratorio, la aplicación de estos agentes químicos es una actividad muy practicada en la industria de los alimentos para inhibir el crecimiento de microorganismos indeseables (Morales, 2005). Estos conservadores son obtenidos mediante síntesis química, y usados comercialmente como los llamados aditivos alimentarios dentro de los cuales tenemos:

4.1.5.1.1. Tipos

4.1.5.1.1.1. Acido sórbico y sorbatos

Son usados en concentración menor a 0.3% en peso para inhibir crecimientos de hongos y levaduras en alimentos con pH hasta de 6.%, su efectividad es mejor al reducir el pH. Empleados principalmente en quesos, encurtidos, jugos de fruta, pan, vino y mermeladas.

Este ácido tiene la propiedad de unirse a la superficie de las células microbianas, modificando la permeabilidad y el metabolismo.

4.1.5.1.1.2. Sulfitos

Con este nombre se agrupan diversos compuestos que en solución acuosa liberan H_2SO_4 . Por su importancia destacan los sulfitos de sodio (Na_2SO_3) y de potasio (K_2SO_3), los bisulfitos de sodio y de potasio ($NaHSO_3$ y $KHSO_3$) y los metasulfitos de sodio y potasio ($Na_2S_2O_5$ y $K_2S_2O_5$), son polvos y cristales con una alta solubilidad en agua por lo que se aplican en un gran número de alimentos sin ningún problema.

Los sulfitos tienen múltiples funciones, que los hacen comunes en el procesamiento de los alimentos dado que: a) inhiben la reacción de oscurecimiento no enzimático de Maillard bloqueando los grupos carbonilos libres de azúcares impidiendo que estos interactúen con los aminoácidos; ejercen también una acción decolorante sobre los pigmentos melanoidinas productos finales de estas transformaciones b) evitan las reacciones de oscurecimiento enzimático pues su poder reductor inhibe la síntesis de quinonas además de que pueden inhibir a la propia enzima y c) realizan acción antimicrobiana definida sobre hongos, levaduras y bacterias, el mecanismo de acción no se conoce totalmente. La industria vitivinícola tiene una gran demanda de estos aditivos, puesto que ejercen diferentes acciones en el vino: a) son blanqueadores y eliminan los colores indeseables b) actúan como antioxidantes reaccionando con el peróxido de hidrógeno, con fenoles y aldehídos oxidados y c) muestran función antimicrobiana contra levaduras y bacterias indeseables.

Estas concentraciones generalmente usadas (500 ppm) no producen olores indeseables ni presentan toxicidad para la mayoría de la población. Sin embargo investigaciones manifiestan que hay individuos con sensibilidad a los sulfitos (Badui, 1999).

4.1.5.1.1.3. Nitritos y nitratos

Son empleados en la elaboración de diversos productos cárnicos embutidos llamadas sales de curación, tienen doble función desarrollan un color característico al formar la nitrosilhemocromo, pigmento típico de las carnes curadas, y actúan como inhibidores

específicos del crecimiento de *Clostridium botulinum*. La dosis generalmente empleada para productos cárnicos es de 200 ppm de nitritos y 500 ppm de nitratos. Además gracias a sus propiedades antioxidantes intervienen estabilizando el aroma y gusto de estos productos (Badui, 1999).

4.1.5.1.2. Actividad

4.1.5.1.2.1. Antimicrobiana

Inhibición de la biosíntesis de los ácidos nucleicos o de la pared celular, daño a la integridad de las membranas e interferencia con la gran variedad de procesos metabólicos esenciales.

4.1.5.1.2.2. Antioxidante

Ejerce una acción estabilizadora retrasando el deterioro que puede llegar a la rancidez o decoloración, debido a la oxidación. Los antioxidantes capturan el oxígeno, antes de que puedan llegar hasta los componentes de los alimentos. Impiden los procesos de oxidación, es decir, las alteraciones producidas por la acción del aire (Eldadfa, 1999).

4.1.5.1.2.3. Ventajas

Bajo costo de producción, fácil producción y paliación a nivel industrial y mayor tiempo de conservación de los alimentos (González, 2005).

4.1.5.1.2.4. Desventajas

Se les atribuye poseer propiedades cancerígenas y toxicológicas además de ser de difícil eliminación del organismo (González, 2005).

4.1.5.2. Conservadores Naturales

Estos conservadores cumplen las mismas funciones que los sintéticos, es un gran número de compuestos de origen vegetal y animal a los que se les ha estudiado tanto sus propiedades antimicrobianas como toxicológicas en respuesta de los consumidores que prefieren productos frescos y mínimamente procesados (González, 2005).

Muchos de estos compuestos se encuentran en investigación para su posible uso en conservación de alimentos sobre todo contra microorganismos patógenos (Hernández, 2003). Hasta el momento el reto es aislar, purificar, estabilizar e incorporar estos antimicrobianos a los alimentos sin afectar sus características sensoriales. La actividad antimicrobiana depende de la variedad de especie o hierba, el tipo de microorganismo y el alimento al que va a ser añadido (Alatríste, 2004).

4.1.5.2.1. Tipos

Los compuestos antimicrobianos de las especias, hierbas y plantas o sus extractos se encuentran generalmente en sus aceites esenciales obtenidos de sus hojas, flores, bulbos y frutos.

4.1.5.2.2. Actividad

4.1.5.2.2.1. Antimicrobiana

Los compuestos fenólicos de los aceites esenciales presentan una gran actividad antimicrobiana contra bacterias gram positivas y gram negativas, presentando mayor sensibilidad las gram positivas, en estas bacterias la acción de los compuestos fenólicos origina la salida de los iones potasio de la célula, decrece el pH intracelular, se colapsa el potencial de la membrana, inhibiéndose la síntesis de ATP, generando la muerte celular (Silva, 2003).

En estudios anteriores se ha descrito el efecto antimicrobiano del orégano de Chihuahua (que es el enfoque principal del experimento) contra bacterias que se relacionan con la seguridad de los alimentos reportándose un efecto menor en contra de microorganismos negativos. Así también se ha demostrado que en su aceite esencial se encuentra presente el timol entre 0.7-40.2% y el carvacrol entre 15.2-41.2% (Silva, 2003).

4.1.5.2.2.2. Antioxidante

Estudios recientes han encontrado más de 100 compuestos antioxidantes en las hierbas y especias. Antioxidantes con sustancias que protegen las células de nuestro organismo ya

que evitan la formación de radicales libres. Los radicales libres estimulan el envejecimiento de las células y contribuyen a aumentar el riesgo de cáncer en el organismo, ya que estimulan ciertas mutaciones.

El Departamento de Agricultura en Estados Unidos (USDA) estudió las propiedades de varias hierbas y encontró que tres tipos de orégano (México, Italia y Grecia) tienen el mayor poder antioxidante. Posteriormente se encuentran el romero, eneldo y tomillo. En cuanto a las especias, la cúrcuma, páprika y la canela encabezan la lista de antioxidantes. Estas hierbas y especias podrían tener mayor poder antioxidante que las frutas y verduras, pero no existe una recomendación y requerimiento establecido para su consumo, como el que hay para la vitamina C, selenio y zinc. Lo ideal es consumirlas con moderación y variedad en la preparación de los alimentos. Las propiedades antioxidantes que tiene el tomillo no las tiene ni el romero y ni la canela (Anónimo 2).

4.1.5.3. Ventajas

Ampliamente distribuidos en la naturaleza, no tóxicos ni nocivos para la salud en las dosis aplicadas y ampliamente aceptados por la población (Gonzalez, 2005).

4.1.5.4. Desventajas

Presentan bajo rendimiento, un alto costo de producción y requiere análisis minuciosos para su aceptación comercial (González, 2005)

4.2. Microorganismos en alimentos de acidez baja

4.2.1. *Clostridium prefringens*:

Pertenece al género *Clostridium* es un bacilo Gram positivo bastante grueso recto con los extremos cuadrados en ángulo recto, de 0.6 a 2.4 μm de ancho y de 1.3 a 19 μm de largo, presentándose solos o en parejas. Las esporas son grandes, ovales, centrales o subterminales. No posee cilios por lo que es completamente inmóvil.

Es una bacteria anaeróbica, el CO_2 favorece su crecimiento, sin embargo tolera la presencia de una pequeña cantidad de oxígeno y es capaz de multiplicarse en presencia

de alrededor de un 5% de O₂ en la atmósfera de incubación. El rango de temperaturas que permite el crecimiento de esta bacteria es amplio entre 15 y 50 °C. Esta bacteria tiene un metabolismo muy activo, un crecimiento rápido y reducen de forma intensa el medio de cultivo en el que se encuentran, lo que favorece su resistencia al oxígeno del aire (Bourgeois y col., 1994).

El enfermedad llamada botulismo causada por este microorganismo, se caracteriza por diarrea y espasmos o retortijones abdominales, que generalmente aparecen unas 10 hr después del consumo del alimento colonizados con 10⁵-10⁹ ufc/g de *Cl. perfringes*. A veces se presentan náuseas y raramente vómitos. Estos síntomas son consecuencia de la liberación de una enterotoxina por las células en fase de esporulación en el tracto intestinal inferior (Mossel, 2003).

4.3. Orégano

4.3.1. Definición

El nombre orégano proviene de la palabra griega “Origanum” y se deriva de dos palabras, “oros” montaña y “ganos” alegría, en alusión a la apariencia festiva que le da esta planta a las laderas de las montañas donde crece (Oliver, 1997).

4.3.2. Especies

En la familia de las Verbenaceae se encuentran *Lippia graveolens* = *Lippia berlandieri*; que son arbustos de hojas oblongas, alcanza de 1.2 a 2 m de altura, con 4 a 6 pedúnculos por nudo, flores en espigas subglobosas, color blancas o amarillentas, zigomorfas; estambres 4 (Flores, 1991).

También figuran especies como el orégano griego *Origanum vulgare subsp. Hirtum* y el orégano turco *Origanum vulgare subsp. Gracite* (Huerta 2005).

4.3.3. *Lippia berlandieri* Shauer

De acuerdo a las características morfológicas, el orégano establecido en el sur de Chihuahua le corresponde la siguiente clasificación según la tabla 4.

Tabla 4. Características morfológicas orégano *Lippia berlandieri* Shauer.

REINO	Vegetal
CATEGORIA	Metaphyta
DIVISION	Tracheophyta
SUBDIVISION	Pteropsida
SUPERCLASE	Spermathopyta
CLASE	Angiospermas
SUBCLASE	Dicotiledoneae
SERIE	Gamopetalas
ORDEN	Lamiales
FAMILIA	Verbenaceae
GENERO	Lippia
ESPECIE	Berlandieri

(Silva, 2003)



Figura 2. *Lippia berlandieri* Schauer

4.3.3.1. Distribución

La mayor producción de orégano para fines comerciales es la del orégano Lippia, cuya especie más abundante en México es *Lippia berlandieri* Shauer (Silva, 2003). Esta

producción se concentra distribuida en los estados de Chihuahua, Durango, Guanajuato, Jalisco, Querétaro, San Luis Potosí y Zacatecas. Estos oréganos comerciales son arbustos que alcanzan hasta 2.5 m de alto y desarrollan en promedio 1.20 m de follaje.

4.3.4. Demanda

4.3.4.1. Nacional

En México, los estados con mayor producción con Chihuahua, Durango, Jalisco, San Luis Potosí y Zacatecas (Oliver, 1997). En México el uso de orégano es principalmente como condimento alimenticio utilizando la materia seca, cuyo precio pagado a los productores no sobrepasa los \$6.00 a \$8.00 por kg (CONABIO, 2000).

En las exportaciones anuales de orégano Chihuahua ha participado con un promedio del 21.05%, compitiendo con otros estados productores como Jalisco, Durango, Hidalgo, Querétaro, Zacatecas y Oaxaca.

EN el estado de Chihuahua la superficie aproximada en la producción de orégano es de 41, 900 has. Los municipios involucrados son: Delicias, Valle de Zaragoza, Valle de Allende, San Francisco Conchos, Meoqui, Villa López, Julimes, La Cruz, Camargo, Saucillo, Jiménez y Villa Coronado.

4.3.4.2. Internacional

Recientemente ha adquirido importancia económica debido a que el 90% de la producción de su materia seca útil es exportada a los Estados Unidos de América y en menor grado a Italia y Japón (Cavazos, 1991).

Las exportaciones de orégano seco no manufacturado a los EE.UU. en el año de 1997 fue de 5, 528, 022 kgs., y México participó con una cantidad de materia seca útil de exportación correspondiente a 1, 740, 132 kgs., superado solo por Turquía (USDA, 1989).

El aceite esencial de orégano es procesado y exportado por España y Francia, a los EE. UU. En el mercado estadounidense puede llegar a cotizarse hasta en US\$120.00, y en el mercado europeo y asiático hasta en US\$180 (USDA, 1989; CONABIO, 2000).

4.3.5. Usos

La mayoría de las especies de orégano tienen nobles propiedades medicinales, que se manifiestan por su compleja composición química. En la práctica terapéutica (herbolaria) las especies de orégano europeas (*Origanum spp*), y las mexicanas (*Lippia spp*) se administran para las mismas dolencias.

También se le dan usos culinarios, cosméticos y terapéuticos. Es utilizado en forma fresca y seca en la cocina mediterránea y de América Latina (Pascual y col., 2001). En México el uso del orégano es principalmente como condimento alimenticio utilizando la materia seca. La importancia fundamental de las especias radica en sus propiedades organolépticas, derivadas de sus atributos como saborizantes o sazónadores de los alimentos (Silva 2003).

4.3.6. Aplicación

Como antimicrobiano, en trabajos previos (Álvarez, 1999), ha descrito el efecto antimicrobiano del orégano de la región de Chihuahua contra bacterias relacionadas con la seguridad de los alimentos (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimorium*). Se demostró un efecto diferencial con relación a la estructura de la pared de los microorganismos estudiados, siendo menor en contra de los microorganismos Gram negativos.

Como antioxidante, desde mediados de 1950 se han hecho estudios sobre la actividad antioxidante de diferentes variedades de orégano. Se tienen reportes que muestran la capacidad del orégano para inhibir la oxidación lipídica en diferentes sistemas modelos, siendo el que presenta la más amplia efectividad antioxidante entre las especies (Abdalla, 2001). En diferentes extractos de orégano, la presencia de compuestos como los ácidos rosmarínico y caféico, el timol y el carvacrol han demostrado su efectividad como antioxidantes (Milos, 2000). Además, se han reportado compuestos del orégano diferentes al timol y carvacrol con actividad antioxidante. (Nakatani, 1987), encontraron dos compuestos fenólicos obtenidos a partir de extractos de orégano que tuvieron una actividad similar a la del BHA. También obtuvieron cinco nuevas estructuras fenólicas y un

glucósido que mostraron una mayor actividad antioxidante que el alfa-tocoferol (Kikuzaki, 1989).

En la industria alimentaria, los conservadores continúan siendo una de las clases más importantes dentro de los aditivos empleados en los diversos grupos de alimentos. Actualmente esta industria enfrenta una creciente exigencia, por parte del consumidor, de alimentos de calidad con mayor capacidad de conservación y sanidad por lo que se hace cada vez más necesaria la eliminación de aditivos sintéticos y su sustitución por productos naturales con menor impacto contra el ambiente, siendo los aceites esenciales y extractos vegetales de hierbas y especias una alternativa de importantes alcances.

El reconocido principio aromático y de sabor de extractos vegetales de diferentes tipos de plantas ha motivado el uso de varios de ellos, principalmente como agentes saborizantes o sazonadores de alimentos y bebidas. Sin embargo, son pocos los alimentos que a nivel comercial contienen aceites esenciales como bioconservadores. Algunos estudios reportan lo siguiente:

4.3.6.1. Carne y Productos cárnicos

Una salsa estilo italiana, conteniendo 0,3% de aceite esencial de orégano y 0,3% de aceite esencial de tomillo redujo significativamente cuentas aeróbicas en placa de *Escherichia coli* O157:H7 por 3 log UFC/g ($P < 0,05$) en filetes crudos de pechuga de pollo. Esta combinación de AEs de orégano y tomillo fue altamente letal para *Salmonella*, *Typhimurium*, *Campylobacter jejuni* y *L. monocytogenes* (Draughon, 2004). El aceite esencial de ajo y cebolla además de tener efecto antimicrobiano contra *Pseudomonas fragi* y *Lactobacillus*, mejoró los atributos sensoriales en chorizo (Morales-López, 1999).

Tabla 5.- Aceites esenciales que han mostrado propiedades antimicrobianas contra microorganismos patógenos.

PRODUCTO	Componentes	Propiedades	M.o.s inhibidos	CMI Intervalo aprox. (μLmL^{-1})	REFERENCIAS
Tomillo <i>Thymus vulgaris</i>	Timol Carvacrol γ -Terpineno p -Cimeno	Antimicrobiano Antiséptico Antioxidante Saborizante	<i>L. monocytogenes</i> <i>E. coli</i>	0,3 0,45-1,25	Foster y Johnson, 2006. Farag et al., 1989
Canela <i>Cinnamomum zeylandicum</i>	Trans-Cinamaldehído	Antimicrobiano Saborizante Antioxidante Hipoglicémico Preventivo contra cáncer	<i>L. monocytogenes</i> <i>S. enteritidis</i>	10-20	Smith-Palmer et al., 2001
Orégano <i>Origanum vulgare</i>	Carvacrol Timol γ -Terpineno p -Cimeno	Antimicrobiano Antioxidante Antiinflamatorio Sazonador	<i>L. monocytogenes</i> <i>E. coli</i>	0,2 0,5	Lee et al., 2004 Smith-Palmer et al., 1998
Clavo <i>Syzygium aromaticum</i>	Eugenol Eugenilacetato	Antifúngico en uvas	<i>L. monocytogenes</i> <i>E. coli</i>	10-12 0,4-2,5	Yuste y Fung., 2002 Lee et al., 2004
Romero <i>Rosmarinus officinalis</i>	α - Pineno Acetato de bornilo Alcanfor 1,8-cineol	Antimicrobiano	<i>E. coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	4,5 > 10 0,4-10	Farag et al., 1989
Planta de limón (lemongrass) <i>Cymbopogon citratos</i>	Citral Geraniol Citronelal	Antimicrobiano	<i>E. coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	1,0 0,6	Saikia, et al., 2005
Ajo <i>Allium sativum</i>	Dialil-disulfuro Dialil-trisulfuro Metil-alil-trisulfuro	Antimicrobiano Preventivo contra cáncer Reducción de colesterol	<i>C. albicans</i> , <i>C. tropicalis</i> <i>B. capitatus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>P. aeruginosa</i> <i>E. coli</i>	0,3-1,0	Khanum, et al., 2004
Citrus aurantifolia <i>Citrus aurantifolia</i>	Monoterpenos y sesquiterpenos: β -pineno, δ -limoneno, γ -terpineno, terpinoleno, α -bergamotene, β -bisaboleno alcohols: linalool, α -terpineol esters: acetatos de geranil y neril aldehídos: citral, neral, geranial	Antimicrobiano	<i>Salmonella spp.</i>	10	O'Bryan et al., 2008

(Leuschner y Zamparini, 2002)

Salsas para marinar con 6% de AE (aceite esencial) de hoja de pimiento inhiben *Acrobacter butzleri* por 2 log UFC/cm² en chuletas de cerdo. Purés de ciruela deshidratada al 3% reducen *E. coli* y *Salmonella* en carne molida.

El ajo fresco picado añadido en una concentración del 1% en peso en mayonesa reduce cuentas de *Salmonella enteritidis* desde 5 log UFC/g hasta < 2 log UFC/g después de 4 días a 25°C (Leuschner y Zamparini, 2002). En general, para los productos cárnicos los AEs de orégano, tomillo, clavo y cilantro son los más efectivos en concentraciones entre 5-20µL/g. Se ha observado que entre mayor sea el contenido de grasa en el producto, se reduce notablemente el efecto de los AEs.

4.3.6.2. Pescado

La mostaza ha resultado altamente efectiva para controlar *E. coli* en salsa de pescado almacenada a 25°C por 28 días (Al-Jedah *et al.*, 2000). El AE de orégano en una concentración tan baja como 0.5µL/g es efectivo para controlar *Photobacterium phosphoreum* en filetes de bacalao. Recubrir la superficie de pescado entero con AE o incorporar el aceite en un recubrimiento para aplicarlo en camarones resulta efectivo para inhibir la flora natural deteriorativa de estos productos (Harpaz *et al.*, 2003). El extracto etanólico del AE de comino (*Cuminum cyminum L.*) en salsa teriyaki para marinar trucha cruda reduce las cuentas de hongos, levaduras y de coliformes, y las cuentas de *L. monocytogenes* disminuyen a niveles no detectables aun después de 9 días de almacenamiento a 4 ó 0°C.

4.3.6.3. Frutas y hortalizas

Los AEs tienen gran potencial en la agricultura como bioplaguicidas, sin embargo es escasa su aplicación en los productos vegetales destinados al consumo humano. Los estudios realizados con AEs se han dirigido principalmente hacia el control de microorganismos fitopatógenos, tanto en pre como en postcosecha; así por ejemplo, contra *Botrytis cinerea*, *Rhizopus stolonifer* y *Colletotrichum gloeosporioides* se han evaluado extractos vegetales y AEs como el de tomillo, hisopo, ajo e isotiocianatos (Wilson *et al.*, 1997; Tiznado-Hernández y Troncoso-Rojas, 2006). En concentraciones de 0,1-10µL/g han resultado eficaces tanto contra la flora natural como contra los

microorganismos patógenos que pueden ser propagados por las frutas y hortalizas (Singh *et al.*, 2002). El carvacrol y el cinamaldehído aplicados por inmersión en concentraciones de 0,15µL reducen la flora natural en kiwi y en mayor concentración para el melón gota de miel.

Los AEs de cítricos usualmente se usan como saborizantes en bebidas de cola y *ginger ale*, así como en perfumería. Los terpenos oxidados contenidos en el AE de cítricos poseen una alta capacidad antifúngica; por ejemplo, el citral es eficaz para inhibir *Penicillium digitatum* y *P. italicum*. El orden de toxicidad desde el más tóxico es citral>neral/geraniol>ácido geránico>metilheptenona>acetaldehído (Wuryatmo *et al.*, 2003).

En los productos vegetales pre-cortados los consumidores son aún más exigentes ya que no aceptan la aplicación de químicos sintéticos como conservadores. En estos casos, los AEs representan una alternativa de gran alcance, pero aún hay que investigar el tipo y niveles adecuados a utilizar para no alterar los delicados atributos de calidad y propiedades sensoriales (Lanciotti *et al.*, 2004; Bosquez-Molina *et al.*, 2007). En ciertas hortalizas los AEs funcionan como aderezo en ensaladas y al mismo tiempo permiten su conservación, tal es la situación del aceite esencial de orégano que inhibe *Escherichia coli* O157:H7 en ensaladas de berenjena utilizando concentraciones de 7-21µL/g.

De acuerdo con lo anterior, cualquier compuesto que se aplique como bioconservador en los productos de origen vegetal de consumo en fresco, deberá reunir los siguientes requisitos: capacidad antimicrobiana eficaz en concentraciones que no sean tóxicas para el consumidor y que no alteren negativamente la frescura, calidad nutricional y sensorial; de aquí la importancia que reviste el umbral sensorial respecto a la concentración mínima inhibitoria MIC (por sus siglas en inglés) en los alimentos tratados.

4.3.7. Mecanismos de acción

La información actualmente disponible respecto al mecanismo de acción de los AEs es escasa; en lo reportado se coincide en que, al ser mezclas complejas de numerosas moléculas con gran diversidad de grupos químicos, es muy probable que la actividad antimicrobiana no se atribuya a un mecanismo específico ya que en las células hay

diferentes sitios en donde pueden actuar, y los eventos pueden llevarse a cabo en forma independiente, simultánea o consecuyente. El carácter hidrofóbico de los AEs les permite incorporarse en los lípidos de las membranas bacterianas y mitocondriales, perturbando su estructura y consecuentemente su permeabilidad, dando lugar a la fuga de iones y otros contenidos celulares vitales, conduciendo finalmente a la muerte del microorganismo (Lambert *et al.*, 2001). Los AEs también podrían actuar sobre las proteínas embebidas en la membrana citoplasmática deformando la interacción lípido-proteína y afectando la actividad de enzimas como la ATPasa, disminuyendo la producción de energía requerida para el funcionamiento celular; otra posible acción sería la interacción directa de los componentes lipofílicos con las partes hidrofóbicas de la molécula de proteína.

4.4. Microencapsulación de aceites esenciales

La encapsulación es un proceso mediante el cual sustancias bioactivas de los alimentos se introducen en una matriz para impedir que se pierdan, para protegerlas de la reacción con otros compuestos o para frenar reacciones de oxidación a causa de la luz o del oxígeno. En líneas generales, la encapsulación constituye un medio de envasar, separar y almacenar materiales para su posterior liberación bajo condiciones controladas. Esta tecnología aporta, en el ámbito alimentario, productos con mejores características sensoriales y nutricionales.

Los procesos de encapsulación empezaron a desarrollarse entre 1930 y 1940 por la National Cash Register (NCR), en Ohio, EEUU, para la aplicación comercial de un tinte a partir de gelatina como agente encapsulante. La aplicación en alimentos es más reciente, debido sobre todo a un abaratamiento de la tecnología, que ha despertado el interés de la industria alimentaria. Este proceso permite, en función de la tecnología aplicada, encapsular nutrientes para que no sean atacados, degradados u oxidados, así como enzimas o células completas, permitiendo que los sustratos y productos entren y salgan de la cápsula.

Para la producción de microcápsulas se han propuesto diversos métodos que se dividen en procesos físicos (secado por aspersión, extrusión y recubrimiento por aspersión), procesos fisicoquímicos (coacervación simple o compleja y atrapamiento en liposomas) y procesos químicos. La selección del método dependerá del tamaño medio de la partícula

requerida y las propiedades fisicoquímicas del agente encapsulante y la sustancia a encapsular, las aplicaciones para el material microencapsulado, el mecanismo de liberación deseado y el coste (Anónimo 4).

Los procesos de microencapsulación de aceites esenciales se realizan más comúnmente con el uso de ciclodextrinas (CD) que es el almidón en conjunción con una enzima en particular, la amilasa de *Bacillus macerans* (Morrison y Boyd, 1998), según la literatura, la eficiencia del proceso de microencapsulación depende de las propiedades tanto del huésped como de la CD. Normalmente cuando se forma el complejo de inclusión entre la molécula huésped y la CD, aumenta la estabilidad de la molécula huésped. La a-CD puede formar complejos con moléculas de menor peso o compuestos con cadenas alifáticas, la b-CD forma complejos con compuestos aromáticos y heterocíclicos y la g-CD puede formar complejos con moléculas más grandes como macrociclos y esteroides. Cuando el huésped es encapsulado, éste puede sufrir cambios en sus propiedades químicas y físicas: protección contra la luz y el oxígeno, modificación de su reactividad química, reducción de su volatilidad y aumento en su solubilidad acuosa. Con lo anterior se obtienen diversas ventajas, además de las ya mencionadas, es posible facilitar el manejo de sustancias altamente hidrofóbicas, transformar compuestos líquidos o gaseosos a sólidos, protección contra degradación microbiana, enmascarar olores, sabores y colores, y una de las más importantes es la liberación controlada del huésped encapsulado (Madene y col., 2006).

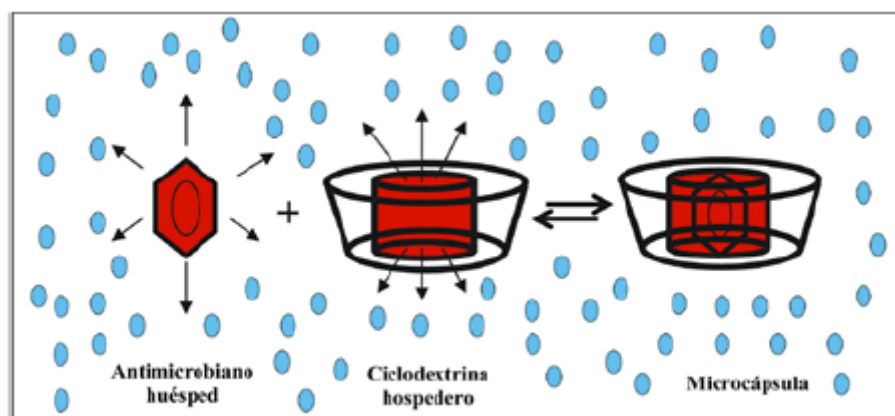


Figura 3. Formación de la microcápsula de compuestos antimicrobianos de aceites esenciales en matriz de ciclodextrina.

4.4.1. Vehículos de aplicación

Definición.- Excipiente c.b.p. (“Cuanto baste para”) farmacéutico

Sustancia inerte que se mezcla con los medicamentos para darles consistencia, forma, sabor u otras cualidades que faciliten su dosificación y uso (RAE, 2009).

4.4.2. Interacción con el principio activo

4.4.2.1. Tipos de unión (enlaces)

Los átomos se unen entre sí para formar moléculas mediante fuerzas de enlace. Los tipos fundamentales de enlace son el iónico, el covalente y el metálico.

Iónico o electrocovalente.- consiste en la atracción electrostática entre átomos con cargas eléctricas de signo contrario. Este tipo de enlace se establece entre átomos de elementos poco electronegativos con los de elementos muy electronegativos. Es necesario que uno de los elementos pueda ganar electrones y el otro perderlo, y como se ha dicho anteriormente este tipo de enlace se suele producir entre un no metal (electronegativo) y un metal (electropositivo).

Covalente.- característico del enlace covalente es la formación de pares electrónicos compartidos, independientemente de su número, en las sustancias covalentes existen moléculas individualizadas. Entre estas moléculas se dan fuerzas de cohesión o de Van der Waalls, que debido a su debilidad, no pueden considerarse ya como fuerzas de enlace. Hay varios tipos de interacciones: Fuerzas de orientación (aparecen entre moléculas con momento dipolar diferente), fuerzas de inducción (ion o dipolo permanente producen en una molécula apolar una separación de cargas por el fenómeno de inducción electrostática) y fuerzas de dispersión (aparecen en tres moléculas apolares).

Covalente coordinado.- se forma cuando el par electrónico compartido es puesto por el mismo átomo. Un enlace covalente coordinado en nada se puede distinguir de un covalente típico, ya que las características del enlace no se modifican (Burns, 2003).

Metálico.- los elementos metálicos sin combinar forman redes cristalinas con elevado índice de coordinación. Hay tres tipos de red cristalina metálica: cúbica centrada en las caras, con coordinación doce; cúbica centrada en el cuerpo, con coordinación ocho, y hexagonal compacta, con coordinación doce. Sin embargo, el número de electrones de valencia de cualquier átomo metálico es pequeño, en todo caso inferior al número de átomos que rodean a un dado, por lo cual no es posible suponer el establecimiento de tantos enlaces covalentes.

En el enlace metálico, los átomos se transforman en iones y electrones, en lugar de pasar a un átomo adyacente, se desplazan alrededor de muchos átomos. Intuitivamente, la red cristalina metálica puede considerarse formada por una serie de átomos alrededor de los cuales los electrones sueltos forman una nube que mantiene unido al conjunto (Anónimo 3).

4.4.2.2. Mecanismos de liberación y actuación de moléculas en la formación de enlaces.

La tendencia de las moléculas a asociarse cuando ocurre una desestabilización de soluciones es debida a una ruptura del equilibrio entre fuerzas atractivas y repulsivas, debida a diferentes parámetros del medio (pH, fuerza iónica, temperatura, etc); esta evolución del equilibrio hacia un sistema estable puede a veces ser muy lenta (de varias horas a varios días).

Es debida a las múltiples posibilidades de asociación de las cadenas poliméricas que se absorben sobre diferentes partículas. El fenómeno puede ser todavía acrecentado por la presencia de cationes divalentes capaces de formar puentes iónicos entre cargas negativas ($-\text{COO}^-$ sobre todo) de proteínas o de polisacáridos (pectinas, alginatos, etc.). Este efecto está estrechamente ligado al pH y al pKa de los grupos ionizados (efecto de formación de puentes marcado a pH neutro y alcalino). Si la concentración de polímeros es suficiente, se forma un gel (Linden y Lorient, 1994).

4.4.3. Diferentes geles obtenidos a partir de macromoléculas

4.4.3.1. Geles obtenidos por una transición sol-gel

Las macromoléculas que forman estos geles (proteínas, polisacáridos) forman en solución diluida y a alta temperatura cadenas helicoidales flojas. A gran concentración (>0.5% para los polisacáridos con cadenas muy estiradas, >6-7% para las proteínas) y baja temperatura, se asocian trozos de cadenas para formar dobles y triples hélices mediante enlaces H y constituir una red gelificada (en caso de la gelatina, o de polisacáridos). Si estos trozos son polielectrolitos (alginatos, pectinas) se forman igualmente puentes por cationes divalentes.

Este proceso de gelificación es muy dependiente de la temperatura e igualmente del pH (para los polielectrolitos) (Linden y Lorient, 1994).

4.4.3.2. Geles obtenidos por reticulación covalente

La macromolécula reacciona con un agente de reticulación bi- o polifuncional que forma puentes covalentes entre las cadenas. En el campo alimentario, únicamente los intercambios de puentes S-S intermoleculares implicados en la termogelificación de las proteínas puede parecerse a este tipo de gelificación. Estos geles pueden, tras deshidratación, formar una estructura sólida porosa.

Estos geles se hinchan en presencia de agua. El hinchamiento cesa cuando la presión interna es igual a la presión osmótica de la solución interna; la red gelificada se comporta como una membrana semipermeable. Si la red es débil, la presión interna del agua desagrega el gel, los agregados que pueden permanecer en suspensión influyen entonces el comportamiento reológico de la solución (Linden y Lorient, 1994).

4.4.4. Vehículos sintéticos

El uso intensivo y generalizado de materiales plásticos rígidos o en forma de película en las actividades cotidianas ha generado a nivel nacional serios problemas de acumulación de residuos sólidos debido a que no son biodegradables.

El incremento sistemático en los países alrededor del mundo, causa el aumento de la cantidad de envases utilizados, lo que supone un peligro para el medio ambiente. El número de vertederos aumenta y los residuos que los llenan no se desintegran espontáneamente. Una significativa cantidad de estos residuos son envases de alimentos.

4.4.4.1. Tipos

Los envases para alimentos y bebidas, en relación con las materias primas utilizadas para producción, pueden clasificarse de la siguiente manera: metal, vidrio, plástico, papel y cartón y compuestos (Kaczmarek, 2003). En los últimos años ha habido una creciente tendencia por el uso de plástico ya sea sintético o biodegradable.

Plásticos sintéticos: Se producen principalmente a partir de polímeros sintéticos como el polietileno (PE), el polipropileno (PP), el polietileno tereftalato (PET), el poliestireno (PS) y el cloruro de polivinilo (PVC).

Envases biodegradables: Son biopolímeros a base de hidroxibutirato o hidroxivalerato, que se producen en la naturaleza durante la biosíntesis.

Estos se descomponen bajo la acción enzimática de los microorganismos: bacterias y hongos.

Existen otros tipos de plástico biodegradables que son las mezclas de polímeros sintéticos con almidón (de patata, arroz maíz) o celulosa. En estos casos, solamente los componentes naturales se descomponen en oxígeno y agua (en condiciones aerobias) o agua y metano (en condiciones anaerobias), mientras que el componente sintético solo se rompe en pequeñas porciones y se disipa en el suelo. Actualmente son relativamente caros (Kaczmarek, 2003).

4.4.4.2. Usos

Dentro de la Industria Alimentaria el amplio uso de los plásticos, rígidos o en forma de película, se debe a sus excelentes propiedades funcionales (versátiles, ligeros, resistentes, propiedades barrera contra la transmisión de H₂O, O₂, CO₂). El tiempo de vida útil de los plásticos como envases o empaques de los productos alimenticios es muy

corto comparado con el tiempo que permanecen en el medio ambiente: el polietileno se degrada 1.7% en 2 años cuando contiene agentes fotodegradables y 0.1% en 100 años en ausencia de ellos. El empleo de biopolímeros (proteínas, polisacáridos, lípidos) en forma aislada o combinados con aditivos (agentes químicos, plastificantes) y polímeros sintéticos (polietileno) ha sido propuesto para generar empaques comestibles o biodegradables que reducirían la contaminación ambiental por residuos sólidos (Martín et al., 1995).

4.4.4.3. Ventajas

Los envases sintéticos se caracterizan por su bajo coste de producción y buenas propiedades mecánicas y de barrera (dependiendo del tipo de plástico). Hoy en día, sustituyen en algunos casos a otros materiales como el vidrio, metal o papel/cartón.

Los envases biodegradables son fácilmente procesables en máquina y se pueden modificar su propiedad dependiendo de las propiedades requeridas: rigidez, elasticidad, color, degradabilidad, etc. Pueden ser reciclados o incinerados. Estos se descomponen bajo la acción enzimática de los microorganismos: bacterias y hongos.

Existen otros tipos de plástico biodegradables que son las mezclas de polímeros sintéticos con almidón (de patata, arroz, maíz) o celulosa. En estos casos, solamente los componentes naturales se descomponen en oxígeno y agua (en condiciones aerobias) o agua y metano (en condiciones anaerobias), mientras que el componente sintético solo se rompe en pequeñas porciones y se disipa en el suelo (Kaczmarek, 2003).

4.4.4.4. Desventajas

Aunque se espera un aumento en la utilización de materiales de envase biodegradables en los próximos años, su importancia ecológica está puesta en duda debido a las sustancias producidas en su descomposición, ya que no siempre son inocuas con el medio ambiente. Actualmente son relativamente caros.

Desde el punto de vista medioambiental, la mayor parte de los envases utilizados beberán destinarse a la recuperación y reciclaje y la menor cantidad posible, a vertederos ya que se generan toneladas diarias en todo el mundo (Kaczmarek, 2003).

4.4.5. Vehículos naturales

Actualmente las películas y cubiertas comestibles encuentran una amplia variedad de aplicaciones: cubiertas de chocolate para nueces y frutas, cubiertas de cera para frutas y hortalizas, fundas para salchichas, etc. Los retos técnicos involucrados en producir alimentos y conservarlos con calidad estable, indican que el uso de este tipo de recubrimientos y películas será mayor de lo que actualmente es.

4.4.5.1. Tipos

El uso más de películas y recubrimientos comestibles naturales son de materiales diversos y pueden clasificarse en: Hidrocoloides (Polisacáridos y proteínas), lípidos y resinas (ceras y aceites) y Multicomponentes (mezclas de diversos compuestos, por ejemplo el quitosano con ácidos, platisificantes, emulsificantes, etc.) (Greener y Fennema, 1994).

4.4.5.2. Usos

Actualmente las películas y cubiertas comestibles encuentran una amplia variedad de aplicaciones: cubiertas de chocolate para nueces y frutas, cubiertas de cera para frutas y hortalizas, fundas para salchichas, etc. Los retos técnicos involucrados en producir alimentos y conservarlos con calidad estable, indican que el uso de este tipo de recubrimientos y películas será mayor de lo que actualmente es.

4.4.5.3. Ventajas

Los recubrimientos comestibles proporcionan una cubierta protectora adicional cuyo impacto tecnológico es equivalente al de una atmósfera modificada, por lo tanto representan una alternativa a este tipo de almacenamiento ya que es posible reducir la cinética de los cambios de calidad y pérdidas en cantidad a través de la modificación y control de la atmósfera interna en estos productos vegetales (Park, 1999).

4.4.5.4. Desventajas

Sin embargo, aunque estas cubiertas pueden incrementar el periodo de vida útil y mejorar el aspecto del producto, el cual resulta con más brillo y por ello más atractivo para algunos

consumidores, también tienen sus limitantes pues entre las principales desventajas que se han reportado de las formulaciones actuales, se encuentra el hecho de que pueden generar el desarrollo de sabores y olores desagradables como resultado de la inducción de anaerobiosis, o que la cubierta se vuelve quebradiza proporcionando un aspecto desagradable a la superficie del producto (Nussinovitch y Lurie, 1995).

4.5. Oligosacaridos y polisacáridos

4.5.1. Definición

Oligosacáridos: Compuestos hidrosolubles de bajo peso molecular constituidos por la unión glucosídica hasta de 10 monosacáridos; puede ser di, tri, tetra, pentasacáridos, etc., reductores o no reductores (Badui, 1997).

Polisacáridos: Polímero de monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos, generalmente de más de 10 monómeros, ya que cuando son menores se denominan oligosacáridos (Badui, 1997).

4.5.2. Tipos

4.5.2.1. Aloe vera

El género Aloe es una planta de la familia de las asfodeláceas o liliáceas, familia con plantas comunes como el ajo, cebolla, espárrago y tulipán. Existen cerca de 300 variedades o especies reconocidas del género aloe, aunque actualmente se limitan a dos especies utilizadas con fines medicinales: el *Aloe ferox miller* o aloe del Cabo, a partir del cual se obtiene principalmente acíbar, y el *Aloe barbadensis miller*, a partir del cual se obtiene acíbar (jugo viscoso de color amarillo y sabor amargo que se concentra con calor del sol, o por ebullición, transformándose en una masa amorfa de color pardo oscuro y sabor muy amargo) y gel de aloe. Un 99.4% del peso del gel de aloe vera es agua. Más del 60% de los sólidos totales son polisacáridos mucilaginosos ligados a azúcares como glucosa, manosa, ramnosa, xilosa, arabinosa, galactosa y ácidos urónicos. El mucílago está compuesto de diferentes polisacáridos neutros, ácidos y acetilados (mananos, glucomananos, galactomananos, etc), responsables de la gran capacidad que tiene la

planta para retener agua y gracias a la cual puede sobrevivir en condiciones de sequía (Anónimo 1).

4.5.2.2. Pectina

Heteropolisacárido estructural (figura #5), que le confiere rigidez a las paredes celulares de muchos frutos (manzana, membrillo, pera, etc) en los que actúa como agente cementante.

Atendiendo al grado de esterificación, las pectinas se clasifican en:

- a) Alto metoxilo, cuando están metoxiladas 60% o más de sus grupos.
- b) De bajo metoxilo, que generalmente presentan menos del 40% de esterificación.

El producto comercial se extrae de diversas formas según la figura #4, pero la más común se extrae de la cáscara de los cítricos usando soluciones diluidas de ácidos. Polvo fino o grueso, blanco o amarillento, insoluble en etanol, soluble en 20 partes de agua (se disuelve más fácilmente en agua cuando se moja primero en etanol, glicerina o jarabes de azúcares), estable en condiciones ligeramente ácidas, pero se despolimeriza en álcalis y ácidos, forma geles en presencia de de azucars y ácidos aunque las de bajo metoxilo también requieren iones calcio. Su capacidad o poder de gelificación se define como los gramos de sacarosa en solución de 63°Brix, capaz de convertirse en un gel consistente con un gramo de pectina (Badui, 1997).

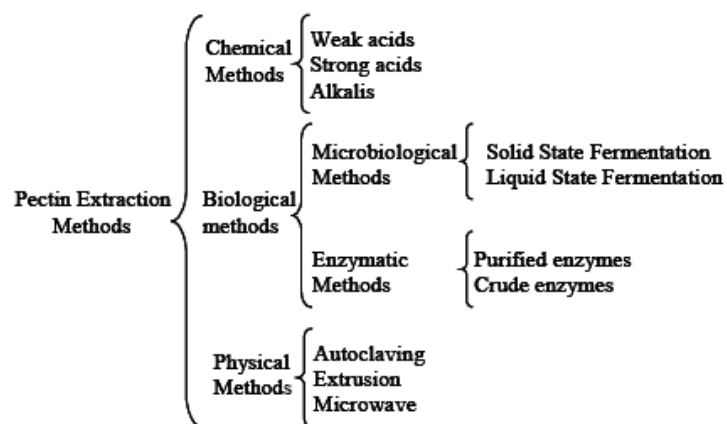


Figura 4. **Métodos de extracción de pectina**

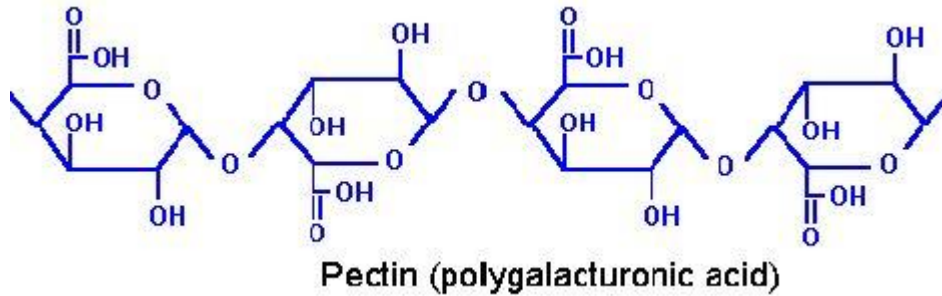


Figura 5. Formula estructural de la pectina o ácido poligalacturónico.

4.6. Formación de geles de pectina

4.6.1. Geles de pectina de alto metoxilo

La primera condición para obtener geles de pectina de alto metoxilo es que el pH sea bajo, para que los grupos ácidos, minoritarios, se encuentren fundamentalmente en forma no ionizada, y no existan repulsiones entre cargas. A pH 3.5, aproximadamente la mitad de los grupos carboxilo del ácido galacturónico se encuentran ionizados, pero por debajo de pH 2 el porcentaje es ya muy pequeño. Las cadenas de pectinas de alto metoxilo pueden entonces unirse a través de interacciones hidrofóbicas de los grupos metoxilo o mediante puentes de hidrógeno, incluidos los de los grupos ácidos no ionizados, siempre que exista un material muy hidrófilo (azúcar) que retire el agua. En consecuencia, las pectinas de alto metoxilo formarán geles a pH entre 1 y 3.5, con contenidos de azúcar entre el 55%, como mínimo, y el 85%.

4.6.2. Geles de pectina de bajo metoxilo

En el caso de las pectinas de bajo metoxilo, el mecanismo de formación de geles es totalmente distinto, ya que la unión entre cadenas se produce a través de iones de calcio, que forman puentes entre las cargas negativas. La estructura es semejante a la "caja de huevos" de los geles de alginato, pero algo menos ordenada, dada la presencia de grupos esterificados entre los galacturónicos sin esterificar. La concentración de calcio es importante hasta llegar a una cierta cantidad, que depende de cada tipo concreto de pectina, y que se conoce como "saturación de calcio". Suele estar en torno a las 500 ppm. Por encima, una mayor cantidad de calcio no tiene efecto, o incluso en algunos casos

puede llegar a debilitar el gel. Esto no sucede en el caso de otros geles de este tipo, como es el de alginato. Las pectinas de bajo metoxilo forman geles de consistencia máxima con cantidades de calcio que oscilan de 20 a 100 mg por gramo de pectina. La presencia de azúcar reduce mucho la cantidad de calcio necesaria. Consecuentemente, a menor cantidad de azúcar presente en el producto, es necesario utilizar pectinas de metoxilo menor para obtener la misma consistencia (Calvo, 2009).

4.6.3. Importancia

Hoy en día su uso está muy extendido en la industria transformadora de frutas debido a su propiedad funcional de gelificación en medio ácido azucarado.

Otras y numerosas propiedades de la pectina son la gelificación en medio menos ácido y en presencia de calcio, el poder espesante y la capacidad de suspensión.

4.6.4. Distribución

La pectina está presente en mayor o menor grado en todas las frutas, en algunas raíces como la remolacha y zanahoria, y en tubérculos como las patatas (Anónimo 5).

4.6.5. Usos

El empleo de la pectina como gelificante ha sido muy extenso debido a las características de las pectinas de bajo metoxilo, de los pectatos y ácidos pécticos, para formar geles con calcio o iones equivalentes, sin o casi sin la presencia de azúcar.

Con estas pectinas se hallan geles que encuentran interesantes aplicaciones no solo en la industria alimentaria, sino también en la farmacéutica y cosmética, para la preparación de pastas y cremas gelificadas, como dispersante y en general para reducir la presencia de azúcar.

En muchos casos además, el empleo de las pectinas de bajo metoxilo es facilitado por la baja temperatura de fusión de los geles obtenidos y por su capacidad de retomar el aspecto primitivo, después de la fusión.

Las pectinas de bajo metoxilo y sus sales (pectinatos) son utilizados en la industria alimentaria para la preparación de pudines de leche, geles de jugos de fruta o mezclas de frutas, geles para rellenos de pastelería, mermeladas para bizcochería y mermeladas con contenido de sólidos inferiores al 55% (Anónimo 5).

4.6.6. Formación de redes interacción con otros compuestos.

En el caso de las de baja esterificación se requiere la presencia de iones calcio y de un pH de 2.8 a 6.5, ya que en estas condiciones los carboxilos se encuentran ionizados y pueden establecer uniones iónicas con otras moléculas de pectina mediante el Ca^{++} ; de esta manera se crea la estructura básica del gel, en la cual, a su vez, los hidroxilos de los residuos del ácido galacturónico retienen agua por medio de puentes de hidrógeno (Fig. 2.29). Para su gelificación no se necesita sacarosa, aun cuando una pequeña cantidad ayuda a proporcionar mayor rigidez puesto que ésta favorece la interacción carboxilo-calcio. Este tipo de pectina es el que se emplea en la elaboración de postres y otros productos con textura de gel destinados a los diabéticos, y en los cuales el azúcar se sustituye por un edulcorante sintético, como la sacarina o el aspartamo.

Por su parte, las pectinas de alto metoxilo gelifican dentro de un intervalo de pH de 2.0 a 3.5 y con 60 a 65% de sacarosa. Mediante estudios de difracción de rayos X se ha comprobado que los geles integrados de esta manera están estabilizados por un gran número de enlaces débiles; los carboxilos se encuentran protonados y crean puentes de hidrógeno entre sí o con los hidroxilos de una molécula vecina de pectina o del disacárido. La adición del azúcar ejerce un efecto "deshidratante" sobre los polímeros, lo que ocasiona que se favorezcan las interacciones polisacárido-polisacárido de manera hidrófoba y se cree una estructura tridimensional que rodea las moléculas de sacarosa altamente hidratadas. En general las pectinas mas metoxiladas producen geles más rígidos y sólidos que los de menor esterificación (Anónimo 6).

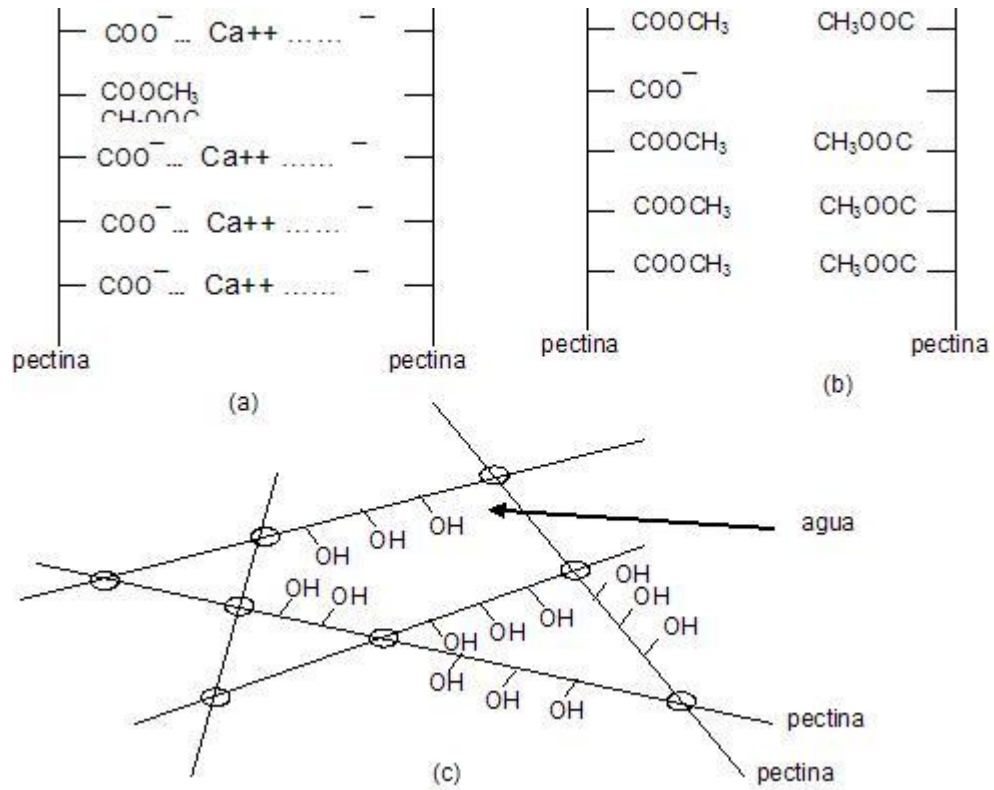


Figura 6. Gelificación de las pectinas: (a), de bajo metoxilo mediante uniones electrostáticas con iones de calcio; (b), de alto metoxilo por puentes hidrófobos de los grupos metilo; (c) estructura tridimensional o gel de las pectinas, cuya unión (círculos) es por los mecanismos (a) o (b); los OH del ácido galacturónico quedan libres para retener agua mediante puentes de hidrogeno.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del sitio experimental

La parte experimental se llevo a cabo en el laboratorio del Departamento de Ciencia y tecnología de Alimentos de la UAAAN con coordenadas 25° 21' 08.43" Norte y 101° 02' 04.04" Oeste a una elevación de 1, 781 msnm.

El trabajo se dividió en 3 etapas para obtener un mejor control del experimento y un mejor manejo de resultados.

5.2. ETAPA 1. Definición del vehículo adecuado para la microencapsulación del aceite esencial del orégano.

Para la obtención del gel que se utilizaría como material para microencapsular el aceite esencial de orégano y como formador de redes para la aplicación en la carne de res, se probó al inicio con los polisacáridos de *Aloe vera*, pero la obtención de los mismos implicó un alto costo, por la alta cantidad de reactivo utilizado, así que se buscó otro medio para la formación del gel.

Por lo anterior se investigó y se determinó que la pectina cítrica comercial tiene una gran capacidad de formación de geles, su precio no es excesivo y, además, se puede elegir entre comprarla o extraerla.

5.3. ETAPA 2. Obtención del gel.

Para el experimento se utilizó pectina cítrica comercial, esta se sometió a una desesterificación en una olla de presión durante 20 minutos a 120 lb de presión.

Para la formación del gel deseado, se combinó la pectina con agua destilada y CaCl_2 (cloruro de calcio).

Una vez obtenida la pectina de bajo metoxilo, se experimento a diversas concentraciones de CaCl_2 oscilando de 20 a 50 mg, ya que no se contaba con Calcio puro (es el principal elemento para la formación del gel, así que se formulo según los pesos moleculares para determinar la cantidad de compuesto a utilizar, a una mayor cantidad de CaCl_2 , no hay formación de gel), y de pectina de 4 a 6 gr para obtener la consistencia deseada. Por último, se complementó con agua destilada para así obtener al final 100gr de gel. Todas las relaciones se manejaron en base peso/peso (p/p).

El proceso de preparación fue el siguiente:

- Se pesó en una balanza analítica (marca Ohaus Adventurer) 4 gr de pectina.
- Se colocó en un vaso de precipitado de 100 ml, junto con un imán y 96 grs de agua destilada, se llevo a un agitador marca Cimarec 2 hasta que se disolviera totalmente.
- Se pesó el CaCl_2 en relación al peso de la pectina y se agregó lentamente a la mezcla y se dejó en agitación hasta la formación del gel.
- Se colocó a cada muestra de gel la concentración de aceite esencial de orégano correspondiente al 0.0, 0.05, 0.10, 0.15 y 0.25% en relación p/p de muestra y aceite esencial.

5.4. ETAPA 3. Aplicación de gel sobre carne de fresca de res inoculada con *Clostridium perfringens* y valoración del efecto antimicrobiano.

La determinación de la cantidad de gel necesaria a utilizar por muestra de carne se calculó como sigue: se pesaron en una balanza analítica marca Ohaus Adventurer 11 muestras 100 gr de carne fresca de res, se depositó el gel en una charola de aluminio y se llevó a la balanza, se colocó la carne y se cubrió esta por ambos lados completamente, el resultado se obtuvo por diferencia de peso; 5 muestras fueron para el experimento con *Cl. perfringens* inoculado directo a la carne fresca y posterior exposición al gel con aceite esencial en sus diversas concentraciones (0.0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.25%), 5 para el experimento *Cl. perfringens* inoculado en el gel con aceite esencial en sus diversas concentraciones: 0.0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.25%, previamente colocado en la carne, y por

último una muestra de carne como testigo, la cual fue expuesta directamente a *Cl. perfringens* sin el uso de gel ni aceite esencial de orégano.

La cepa de *Cl. perfringens* se viabilizó previamente en un tubo inclinado con agar Shaedler, con lo que se obtuvo un crecimiento a las 48 hrs.

Cepa fue proporcionada por el Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos de la UAAAN.

5.5. Preparación de muestras:

***Clostridium perfringens* inoculado directamente en carne fresca y exposición al gel con aceite esencial de orégano en sus diversas concentraciones (0.0, 0.05, 0.10, 0.15 y 0.25%) y un testigo de carne sola.**

Se prepararon 6 muestras, 5 con la cantidad de gel necesaria por cada 100 gr de carne de res fresca, con el 0.0, 0.05, 0.10, 0.15 y 0.25% de aceite esencial de orégano y un testigo.

Los cortes de carne se colocaron por separado en charolas de aluminio, se tomó una azada de uno de los tubos, se sembró en estría por un lado de la carne, se le colocó el gel aplicando la técnica de tipo empanizado en el lado de la siembra empleando unas pinzas esterilizadas, se le dio la vuelta y se repitió la operación.

Las muestras se colocaron en bolsas Ziploc[®] con cierre hermético, se les extrajo el aire y se llevaron a refrigeración a una temperatura de 4 a 6 °C.

***Clostridium perfringens* inoculado directo en el gel previamente colocado sobre carne fresca de res, empleando para el gel concentraciones de 0.0, 0.05, 0.10, 0.15 y 0.25% de aceite esencial y un testigo de carne sola.**

La operación fue la misma que la anterior, solo con la variante de que la siembra se realizó en estría sobre el gel previamente colocado en la carne (y no sobre la carne) utilizando

una técnica de tipo empanizado, empleando pinzas esterilizadas para el manejo directo de la carne.

Las muestras se colocaron en bolsas Ziploc® con cierre hermético, se les extrajo el aire y se llevaron a refrigeración a una temperatura de 4 a 6 °C.

5.6. Preparación del testigo:

Se pesaron en una balanza analítica 100 gr de carne fresca, se colocaron en una charola de aluminio, se sembró una azada de *Cl. perfringens* en estría directamente sobre carne fresca. El microorganismo se obtuvo de un tubo de ensaye con la bacteria viabilizada.

Toma de muestra para determinación, valoración y conteo de UFC (Unidades formadoras de colonias):

Utilizando un cuchillo limpio y esterilizado, se cortaron 10 gr de carne, esta se colocó en un vaso de precipitado de 50 ml, se le agrego solución buffer fosfato a un pH de 5.7 (que fue la lectura que arrojó la carne fresca) hasta cubrir la muestra, se agitó durante 4 segundos, con una pipeta de 10 ml, se extrajo un ml de solución y se llevó a un tubo de ensaye (previamente ya conteniendo 9 ml de solución buffer esto para obtener diluciones 1:10), se mezcló completamente, se sembró una azada en estría en agar Shaedler en cajas petri por triplicado, se sometieron a condiciones de anaerobiosis y se llevaron a una incubadora marca Riossa E-71 a una temperatura oscilando entre 30-34°C por 0, 24, 48, 72, 96 y 120 hrs. Al término de cada fracción de tiempo se contabilizaron las colonias, llevándose un registro.

Posteriormente se sometió a los datos a un análisis estadístico.

NOTA: Todo lo anterior se repitió en cada muestra preparada incluyendo el testigo; cabe aclarar que las diluciones se realizaron a partir de las 24 hrs del inicio del experimento.

VI.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. ETAPA 1. Definición, obtención y caracterización del vehículo adecuado para la microencapsulación del aceite esencial del orégano.

El objetivo inicial para el diseño de la cubierta se basó en el uso de gel de *Aloe vera* como microencapsulador, pero se decidió cambiarlo por el gel a base de pectina cítrica, lo cual obedeció a las razones siguientes: para llegar a obtener el gel de *Aloe vera* hay un gasto excesivo de reactivos, es muy cara su producción a nivel laboratorio y las cantidades obtenidas son mínimas; sin embargo, para la preparación de gel a base de pectina, este resultado ser más efectivo (hablando en costos y tiempos), y las cantidades de uso de CaCl_2 y agua destilada son mínimas, obteniendo un gel de una excelente consistencia.

Los resultados arrojados por el experimento en cuanto a determinación de las cantidades a utilizar de cada compuesto fueron: 4 gr de pectina cítrica, 0.332 gr de CaCl_2 y 96 gr de agua destilada para llegar a la obtención del gel con las características buscadas (especificando que las relaciones son p/p), cantidades que están dentro de los rangos especificados por Calvo (2009).

6.2. ETAPA 2. Aplicación del gel sobre carne fresca de res inoculada con *Clostridium perfringens* y valoración de su efecto antimicrobiano de los tratamientos

Aplicación del gel con aceite esencial de orégano (en diferentes concentraciones) sobre carne fresca de res y valoración del efecto sobre *Clostridium perfringens* inoculado directamente en carne.

Los resultados que se presentan a continuación se evaluaron suponiendo que la carne estaba completamente inocua, ya que se desconoció la manipulación que recibió antes del experimento en el lugar de donde fue obtenida.

La gráfica que se presenta en la figura 7 se obtuvo trabajando con los datos originales en Log 10 evaluando incrementos y decrementos (Deltas) en el crecimiento microbiano, lo

que los hace más claramente apreciados y después se realizó un análisis de medias utilizando la prueba estadística t de Student ($p \leq 0.05$). Como se ha considerado una base cero, todos los puntos por debajo de esa base son los efectos ejercidos por la cubierta del gel con sus respectivas fracciones de aceite esencial.

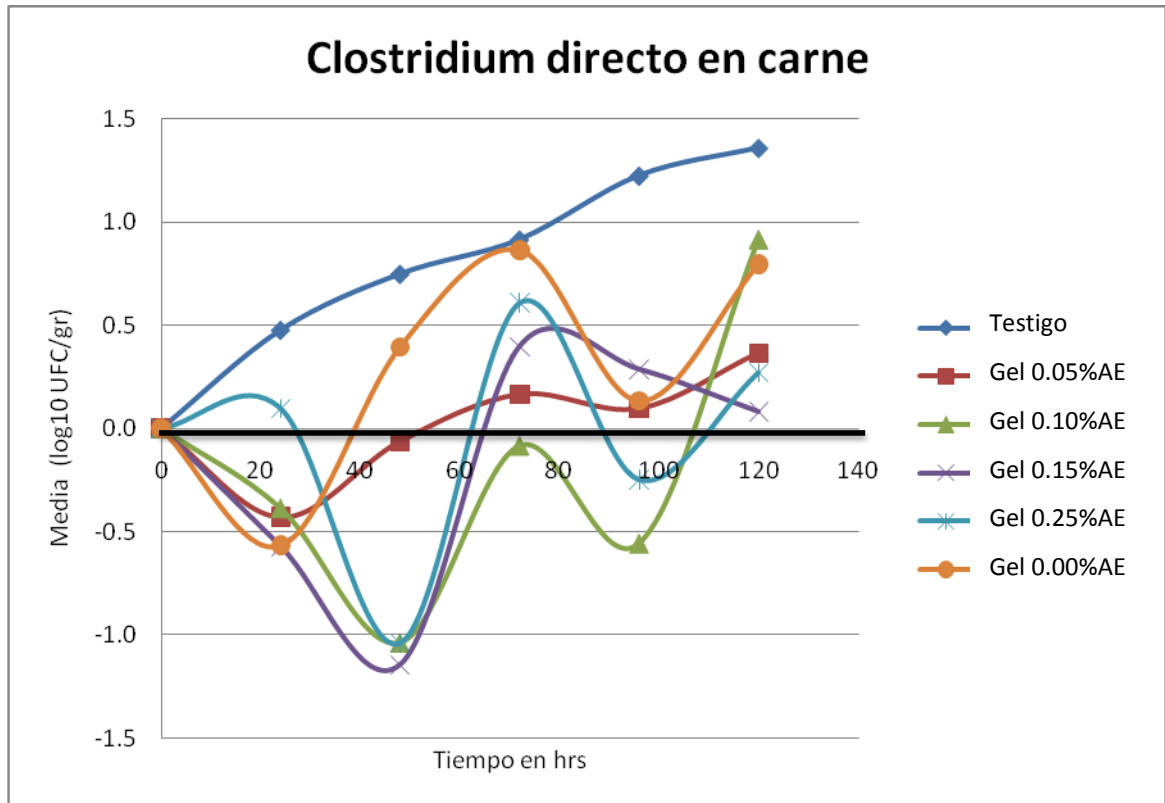


Figura 7: Clostridium directo en carne

En la grafica de la figura 7 se puede observar que el menor crecimiento se obtuvo con el gel con 0.15% AE a las 48 hrs mostrando una típica curva de crecimiento microbiano donde se entra en fase de muerte poco después de la 72 hrs. Sin embargo, a las 48 hrs no hay diferencia estadísticamente significativa con el gel con 0.10% AE.

El gel con concentraciones de 0.05, 0.10 y 0.25% AE presentan un comportamiento irregular con tendencia a aumentar, por lo que no resultan efectivos en el control del microorganismo en estudio. Para el gel con 0.0%AE también se presenta un comportamiento errático ajustado al comportamiento típico de una curva de crecimiento microbiano, posiblemente a las condiciones de anaerobiosis más favorables que se generan.

Por último, se puede apreciar que el testigo mostró un crecimiento de tipo lineal durante todo el experimento, siempre mayor a cualquiera de los tratamientos empleados.

Aplicación del gel con su respectivo % de aceite esencial de orégano sobre carne fresca de res y valoración del efecto con la inoculación de *Clostridium perfringens* DIRECTO EN EL GEL.

Los resultados del efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano se presentan en la Figura 8.

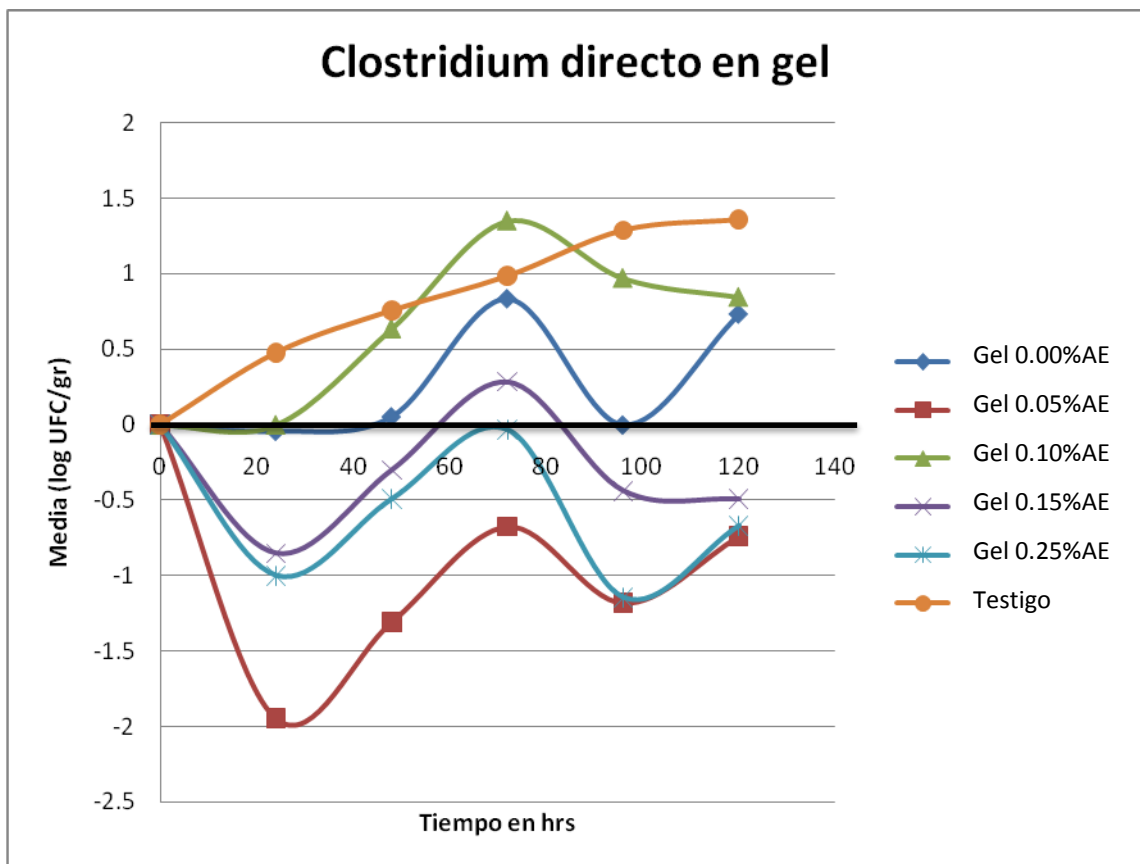


Figura 8. *Clostridium* directo en gel

Para este caso, la grafica se obtuvo trabajando con los datos originales en Log 10 evaluando los diferenciales en crecimiento microbiano, gracias a esto los cambios en aumentos y decrementos del crecimiento bacteriano son más claramente apreciados y después se sometió a los datos a una prueba estadística de t de Student ($p \leq 0.05$). Como

se tomó una base cero, todos los puntos por debajo de esa base son los efectos ejercidos por la cubierta del gel con sus respectivas fracciones de aceite esencial.

El mejor resultado se presentó el gel con 0.05% AE a las 24 hrs (que en términos de beneficio/costo es lo ideal), siguiéndole el gel con 0.25% AE, en cuanto a efectividad. Las demás concentraciones muestran una efectividad menor a las que presentan los tratamientos mencionados.

Nótese que al tiempo de 96 hrs tanto la concentración de 0.05% como la de 0.25% presentan un comportamiento muy similar, mostrando sólo una diferencia numérica que no es estadísticamente significativa, ya que si esa muestra se siguiera contabilizando ya no hubiera presentado crecimiento.

En comparación con lo anterior, el testigo muestra un crecimiento de tipo lineal donde no se observa cambio alguno. Los demás tratamientos presentan un comportamiento típico de curvas de crecimiento microbiano, sin la misma efectividad que los mejores tratamientos ya descritos.

Para el gel con 0.10% AE, se puede observar que el crecimiento se mantuvo después de las primeras 24 hrs casi por debajo de la línea cero, es debido a que el efecto ejercido sobre el microorganismo a esa concentración no resultó ser muy efectivo, por lo que en el presente experimento sería la dosis riesgosa, ya que es en la que a la bacteria se le permitiría mutar y adaptarse a tales concentraciones de antibiótico, lo que es fácilmente observable en la gráfica, esto referente a la resistencia a los antibióticos que está provocada por la transferencia de características genéticas de resistencia entre las bacterias de la misma o de diferentes especies. Por lo general, cuanto más se usa un antibiótico específico, mayor es el riesgo de que surja y se extienda la resistencia contra el mismo y, por consiguiente, de que éste sea cada vez menos eficaz (Anónimo 7, 2009).

Los diferenciales (Deltas) del crecimiento bacteriano son claramente apreciados, ya que la base cero y todos los puntos por debajo de esa base son los efectos ejercidos por la cubierta del gel con sus respectivas concentraciones de aceite esencial.

Todos los resultados anteriores coinciden con lo reportado por Rangel (2005), quien reporta la presencia de propiedades antimicrobianas en el aceite esencial de orégano, ya que demostró inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos anaerobios alimentarios *C. perfringens* y *B. cereus*, siendo la mejor fracción inhibitoria la número 2 compuesta por timol-carvacrol en concentraciones de 0.5, 0.10, 0.15 y 0.20%. Dicha fracción fue la empleada en el presente trabajo.

Por otra parte, Morales (2005) refiere que para microorganismos aerobios esporulados el mejor efecto inhibitorio se logra con fracciones de aceite de orégano con cantidades semejantes de sus componentes (efecto sinergista), este trabajo muestra que no es así para el microorganismo estudiado.

La evolución de las características organolépticas presentadas en la carne se hicieron notar desde el día uno, observándose cambios notables a los sentidos conforme el experimento avanzaba; los testigos presentaron coloraciones más notables y olores más fuertes. Las muestras que fueron tratadas por el gel y las diversas fracciones presentaron cambios de color menos notables que el testigo, y en cuanto a olor se mantuvo un aroma agradable, característico del aceite esencial de orégano.

VII. CONCLUSIONES

El uso de pectina es más factible que el empleo de polisacáridos de *Aloe Vera* debido a que el primero, para la elaboración del gel y sus componentes que lo constituyen para ser usado como microencapsulador del aceite esencial de orégano, es de un costo más bajo en cuanto a obtención e implementación a nivel laboratorio.

Para el experimento realizado con la inoculación de la bacteria *Cl. perfringens* inoculado directo a la carne seguida de la aplicación del gel ya conteniendo sus diversas fracciones de aceite esencial de orégano, el tratamiento que mostró un mejor efecto fue el gel con 0.15% AE, a las 96 hrs.

En cuanto a la inoculación de la bacteria *Cl. perfringens* directo en el gel con diferentes concentraciones de aceite esencial, el tratamiento que resultó tener el mejor efecto fue el gel con 0.05% AE a las 24 hrs. Esto se refleja de una manera muy positiva en cuanto a costo-beneficio, porque esta fue la concentración más pequeña que se utilizó.

Las características organolépticas de las muestras de carne tratadas con las diversas concentraciones efectivas de aceite esencial de orégano presentaron mucho menor deterioro con respecto al testigo.

La hipótesis planteada al inicio del presente trabajo se acepta: es posible utilizar una película con aceite microencapsulado para conservar carne fresca de res en condiciones de anaerobiosis contra patógenos anaerobios estrictos que generan toxinas en este tipo de alimento.

Es recomendable realizar un análisis FTIR para asegurarse de la distribución del aceite esencial en el gel que se empleará como película comestible, y de esta manera asegurar su efectividad en su empleo a escalas mayores.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- Abdalla**, A. E., Roozen, J. P. 2001. The effects of stabilized extracts of sage and oregano on the oxidation of salad dressings. Eur. Food Res. Technol. 212.
- Aberle**, E. D., J.C. Forrest, D. E. Gerrard, E.W. Mills, H.B. Hedrick, M.D. Judge, y R..A. Merkel 2001. Principles of meat science. Fourth Edition. Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, Iowa.
- Adel**, Z.M.B.; Siham, M.M.F.; Ahmed, T.M.E.; Barakat, S.M.M. 2002. Application of some apices in flavoring and preservation of cookies: 2. Antimicrobial and sensory properties of cardamom, cinnamom and clove. Deustche Lebensmittel-Rundschau.
- Alatraste Montiel** K.J. 2004. Mezclas ternarias de antimicrobianos naturales y/o sintéticos como agentes inhibidores del crecimiento en levaduras. Tesis Maestría en ciencia de Alimentos. Universidad de las Américas. Cholula, Puebla, México.
- Aranda**, M.V., N. Brave y R. Casagrande. 2002. Colesterol en bovinos. INTA. Disponible en : http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica
- Álvarez**, C. A. 1999. Determinación y cuantificación de la capacidad antimicrobiana y antioxidante de las fracciones polares del orégano (*Origanum vulgare L*). Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de Chihuahua.
- Anónimo 2007 (1)**. Citado el 23/09/09. Gel de aloe vera y su composición química. Disponible en:
http://www.quiminet.com/ar6/ar_bcBubcBuzgt-el-gel-de-aloe-vera-y-su-composicion-quimica.htm
- Anónimo 2009 (2)**. Citado el 19/09/09. Disponible en:
http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/garcia_r_mi/capitulo4.pdf
- Anónimo 2009 (3)**. Citado el 21/09/09. Uniones químicas. Disponible en:
http://www.fisicanet.com.ar/quimica/uniones/ap02_enlaces.php
- Anónimo 2007 (4)**. Citado el 17/09/09. La encapsulación en alimentos. Disponible en:
<http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2006/04/26/23292.php>
- Anónimo 2009 (5)**. Citado el 28/11/09. El uso prudente de los antibióticos es de vital importancia. Disponible en:
http://ec.europa.eu/research/leaflets/antibiotics/page_28_es.html

Anónimo (6). Citado el 5/10/09. Procesamiento y conservación de frutas. Dirección Nacional de Servicios Académicos Virtuales. Universidad Nacional de Colombia SEDE Bogotá. Disponible en:

<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2006228/teoria/obmerm/p3.htm>

Anónimo (7). Citado el 5/10/09. Propiedades funcionales de polisacáridos estructurales: pectinas arabinosilanos, agarosas, gomas, etc.. Disponible en:

http://www.plm-alimentario.com/src/prods/34_ing_text.html

Badui Dergal, S.1997. Diccionario de tecnología de Alimentos. Ed. Alhambra Mexicana. México,DF.

Badui Dergal, S.1999. Química de los alimentos. Ed. Pearson Educación. México,DF.

Bayoumi, S.1992. Bacteriostatic effect of some spices and their utilization in the manufacture of yoghurt. Chemie Mikrobiologie Technologie der Lebensmittel.

Bourgeois, C.M., Mescle, J.F. y Zucca, J.1995. Microbiología Alimentaria Vol. 1. Ed. Acribia. Zaragoza, España. Págs. 33,-35, 84,85, 89, 93-101, 110,111.

Bosquez-Molina, E.; Ronquillo de Jesús, E.; Bautista-Baños, S. 2007. Antimicrobial potential of thyme, lemon and mandarine essential oils for controlling postharvest phytopathogens (*Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizopus stolonifer* and *Fusarium sp.*) of papaya fruit. IFT Annual Meeting and Food Expo. Chicago, Illinois, USA. July 27-August 1.

Burns, Ralph A. 2003. Fundamentos de Química. Cuarta edición. Ed. Pearson Educación. México.

Calvo, Miguel. 2009. Bioquímica de los alimentos. Citado el 29/09/09. Disponible en:

<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/pectinas.html>

Cavazos, D. J.R. 1991. Características ecológicas y producción de orégano (*Lippia berlandieri SchauerK*) en poblaciones naturales. INIFAP-CIFAP-B.C.S.

CONABIO. Comisión Nacional de Biodiversidad. 2000. Orégano Mexicano: Oro Vegetal. Disponible en:

<http://www.conabio.gob.mx/biodiversitas.htm>

Diccionario Real Academia Española. Disponible en: www.rae.com

Draughon, F.A. 2004. Use of botanicals as biopreservatives in foods. Food Technology 58.

Fennema, D.R. 1996. Food chemistry. 3th Ed. Marcel Dekker Inc. New York.

FINANCIERA RURAL. Marzo 2009. Dirección General Adjunta de Planeación Estratégica y Análisis Sectorial. Monografía del ganado bovino.

- Forrest**, J.C., E.D. Aberle, H.B. Hedrick, M.D. Judge y R. Merkel. 1979. Fundamentos de ciencia de la carne. Editorial Acribia. Zaragoza (España).
- Flores**, G. G. J. 1991. Selección de una propuesta de manejo para orégano, en la zona norte de Jalisco. INIFAP-CIFAP-JALISCO.
- González** Paulino, H. 2005. Determinación de la capacidad antimicrobiana del látex de Sangregado (*Croton lechleri*). Tesis Ingeniería en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila.
- Guynot**, M.E.; Marín, S.; Setó, L.; Sanchis, V.; Ramos, A.J. 2005. Screening for antifungal activity of some essential oils against common spoilage fungi of bakery products. Food Science and Technology International.
- Harpaz**, S.; Glatman, L.; Drabkin, V.; Gelman, A. 2003. Effects of herbal essential oils used to extend the storage life of freshwater-reared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). J. Food Protection.
- Hernández** P.L del C. 2003. Actividad inhibitoria y letal de los extractos de ajo para *E. coli* y *L. Innocua*. Tesis de Licenciatura en Ingeniería de Alimentos. Universidad de las Ameritas Puebla. Disponible en:
http://140.148.3250/udla/servlet/mx.udlap.ict.tales.html.Block?Thesis_857&Type_O
- Huerta**, C. 2005. Orégano Mexicano: oro vegetal. CONABIO. Disponible en:
http://www.conabio.gob.mx/institución/conabio_espanol/doctos/indice15.html
- Jiménez**, F. 2000. Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products. Trends in Food Science & Technology.
- Lambert**, R.J.W.; Skandamis P.N.; Coote, P.; Nychas, G.J.E. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol, and carvacrol. Journal of Applied Microbiology.
- Lanciotti**, R.A.; Gianotti, A.; Patrignani, F.; Belletti, N.; Guerzoni, M.E.; Gardini, F. 2004. Use of natural aroma compounds to improve shelf-life and safety of minimally processed fruits. Food Science and Technology.
- Leuschner**, R.G.K.; Zampanini, J. 2002. Effects of spices on growth and survival of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella enterica* serovar Enteritidis in broth model systems and mayonnaise. Food Control.
- Madene** A, Jacquot M, Scher J, Desorbry S. 2006. Flavour encapsulation and control release-A review. Intl J Food Sci Technol. 41: 1-21.

- Milos**, M., Jerkovic, I., Mastelic, J., 2000. TChemical composition and antioxidant effect of glycosidically bound volatile compounds from oregano (*Origanum vulgare L. ssp hirtum*). Food Chemistry. 71. 79-83.
- Mossel** D.A.A., B.Moreno y C. B. Struijk. 2003. Microbiología de los alimentos. Segunda edición Ed. Acribia. Zaragoza, España. Págs. 98, 137,169, 170, 181, 185,186, 272,273
- Morrison**, Thornton Robert, Boyd, Neilson Robert. 1998. Química Orgánica. Quinta edición. Ed. Pearson Educación.México.
- Morales** Ángeles, G. 2005. Aplicación de aceite esencial de orégano (*Limpia berlandieri* Shauer) como antimicrobiano en patógenos de importancia en lacarne de res. Tesis Ing. en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Morales-López**, J. 1999. Efecto bacteriostático de aceites esenciales de ajo y cebolla sobre dos microorganismos presentes en carne. Tesis, Maestría en Biotecnología UAM-I.
- Nakatani**, N., Kikuzaki, H. 1987. A new antioxidative glucoside isolated from oregano (*Origanum vulgare L.*). Agric. Biol. Chem. 51. 10. 2727-2732.
- Oliver**, G. 1997. The world market of oregano. (en) Oregano. Proceedings of the IPGRI international workshop on oregano. (Ed) Padulosi, S.
- Pearson**, A.M. y T.A. Gillet. 1999. Processed meats. Third edition. Aspen Publishers Inc. Gaitherbeg, Maryland.
- Piironen**, V., J. Torvo y A.M. Lampi. 2002. New data for cholesterol contents in meat, fish, milk, eggs and their products consumed in Finland. Journal of Food Composition and Analysis.
- Prändal**, Oskar, et al., Tecnología de la carne. 1994. Editorial Acribia, S. A.
- Serra, X., M. Gil, M. Gispert, L. Guerrero, M.A. Oliver, C. Sañudo, M.M. Campo, B. Panea, J.L. Olleta, R. Quintanilla y J. Piedrafita. 2004. Characterization of young bulls of the Bruna del Pirineus cattle breed (selected from old Brown Swiss) in relation to carcass, meat quality and biochemical traits. Meat Science.
- Salas**, Valerio Walter Francisco. Centro de Investigación y Capacitación en Envases y Embalajes. Universidad Nacional Agraria La Molina. Peru. Citado el 23/09/09. Disponible en: <http://tarwi.lamolina.edu.pe/~fwsalas/CAP-03..rtf>
- Silva** Vázquez, Ramón. 2003. El Orégano (Los nuevos caminos de la agricultura). Folleto técnico CONAZA. CIRENA (Centro de Investigación para los Recursos Naturales). Salaices, López, Chihuahua.

- Singh, N.;** Singh, R.K.; Bhunia, A.K.; Stroshine, R.I. 2002. Efficacy of chlorine dioxide, ozone and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *Lebensmittelwissenschaften und Technologien*.
- Stryer, L.** 1988. *Bioquímica*. Tercera edición. Editorial Reverté, Barcelona (España).
- Tiznado-Hernández, M-E.;** Troncoso-Rojas, R. 2006. Control of fungal diseases with isothiocyanates. *Stewart Postharvest Review* 1:4 DOI:10.2212
- USDA.** 1989^a. U.S. essential oil trade. USDA Foreign Agr. Serv. FTEAA 2-89.
- Warris, P.D.** 2000. *Meat Science: An introductory text*. CABI publishing. New York, USA.
- Wilson, C.L.;** Solar, J.M.; El Ghaouth, A.; Wisniewski, M.E. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*.
- Wuryatmo, E.;** Klieber A.; Scott, E. 2003. Inhibition of citrus postharvest pathogens by vapor of citral and related compounds in culture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

IX.ANEXOS

Cuadros del análisis de varianza T-Student del análisis cuantitativo:

Clostridium perfringes inoculado directo en carne

Tabla 6. Comparación por tratamientos

Level					Least Sq Mean	
sin pectina	A				0.7833577	
Pectina		B			0.2706869	
pectina 0.25		B	C		0.1330682	
Pectina 0.05			C	D	0.0252355	
pectina 0.15				D	E	-0.1555458
pectina 0.10					E	-0.1934821

Tabla 7. Comparación por tratamientos

Level					Least Sq Mean
120	A				0.6313088
72	A				0.4770926
96		B			0.1601688
0		B	C		-0.0000000
48			C	D	-0.1694678
24				D	-0.2357821

***Clostridium perfringens* inoculado directo al gel**

Tabla 9. Comparación por tratamientos

Level				Least Sq Mean
sin pectina	A			0.822485
pectina 0.10	A			0.622460
Pectina		B		0.038983
pectina 0.15			C	-0.334058
pectina 0.25			C	-0.555021
Pectina 0.05			D	-1.073495

Tabla 10. Comparación por tiempos

Level				Least Sq Mean
72	A			0.3609819
120	A	B		0.0723124
0		B		-0.0000000
48		B		-0.0938094
96		B		-0.1609067
24			C	-0.6572243

