

AGRADECIMIENTOS

En un día tan especial como la culminación de una carrera profesional es importante reconocer a todas y cada una de las personas que contribuyeron a mi formación profesional, especialmente a los profesores que se esforzaron por inculcar principios que finalmente serán en beneficio de una sociedad.

A mi **Universidad** que ofrece a infinidad de estudiantes como yo la oportunidad de terminar una carrera universitaria para obtener un futuro mejor; además de encontrar tantas cosas que siempre estarán en mi mente como recuerdos maravillosos de mi vida estudiantil.

A todos los que forma parte de mi **Familia, especialmente ala Familia González De La Fuente**; mis tíos que me abrieron las puerta de su casa y me dieron sabios consejos, a todos ya que sin limites siempre me ha brindado su apoyo para seguir adelante mostrando su confianza en mi, en todo momento.

A la familia **Espinoza** ya que me han apoyado de muy diversas formas aun cuando no son parte de mi familia.

Al **Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología (COECyT)** por el apoyo económico que me brindaron a través de su programa de becas tesis, ya que sin esta ayuda no se hubiera podido cumplir las expectativas esperadas en la realización de esta tesis.

Al **Centro de Investigación para los Recursos Naturales (CIRENA)**, especialmente a el **M.C. Ramón Silva Vázquez** por haber proporcionado el material de trabajo para la realización de este proyecto.

A la Q.F.B. **Leticia Mata (lácteos Normex)** por su amistad y proporcionar un gran apoyo cuando mas lo necesite; sin interés alguno además de sus valiosos consejos.

A la **M.C. María Hernández González**, por dirigir este trabajo de investigación, mostrando mucha paciencia para que todo salga bien.

A la **M.C Xóchitl Ruelas Chacón**, por el enorme apoyo que me proporciono cuando mas lo necesite, además por ser una persona sencilla y preocupada por la superación de todos y cada uno de sus alumnos manifestándolo con gran cantidad de detalles.

Al **M.C. Oscar Noe Reboloso**, por ser parte esencial en nuestra formación profesional.

A la **M. Ed. Ma. De Lourdes Morales Caballero** por la enorme preocupación por que sus alumnos adquirieran principios sólidos y por sus consejos.

A la Q.F.B. **Laura Oliva Lara** por el apoyo y confianza.

A todo el personal del departamento de nutrición y alimentos.

A todas las persona que influyeron en mi educación profesional de muy diversas formas Muchas gracias.

A mis **amigos y compañeros de generación**, por los momentos que estuvimos juntos por el echo de compartir un sueño y llevar al termino nuestros estudios.

A mis **primos** Octavio, Gaby, Claudia, Noe, Sandy, Norma, Keren; pues siempre confiaron en mi y me apoyaron por la forma tan especial de manifestar su apoyo.

A compañeros de la carrera que me apoyaron de diferente forma pero siempre proporcionando un gran apoyo Amira, Cecilia, Francisco y Luis Alberto.

DEDICATORIAS

Especialmente a las personas que mas han influido de manera decisiva en mi vida; a **Mi Abuelo Jesús Estupiñán** que mas que un abuelo fue un gran amigo; siempre alegre, en cada momento manifestando su amor, y sobre todo predicar con el ejemplo, un ejemplo de enorme fortaleza hasta el ultimo momento; que fue parte importante en mi motivación para llegar hasta donde estoy ahora.

A mi **Bebe Patricia Itzel** que fue un motivo muy grande para lograr salir adelante, ya que por medio de ella aprendí nuevas cosas; pero sobre todo a conocer y tratar de lograr lo que quiero.

A **Ezequiel Oviedo Campos**, Llegaste a mi vida cuando menos lo esperaba y nunca te busque, Dios cruzo nuestros caminos y le estoy gratamente agradecido por eso.

por ser quien siempre estuvo a mi lado apoyándome no solo como pareja sino también como amigo, por manifestar una enorme paciencia y motivarme para no darme por vencida pues siempre hay una palabra en la que me da fuerza y se que siempre voy a contar con el.

Pero especialmente a mis Padres:

Nicasio De La Fuente

Alicia Estupiñán Córdova

Ya que ellos sin condición alguna siempre manifiesta su apoyo y gran amor por mí, por el esfuerzo que realizaron al apoyarme y por darme la oportunidad de seguir con mis sueños.

A mis hermanos, Blanca, Toño, Erika, Nora y Carlos que indirectamente siempre me han apoyado.

INDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	1
DEDICATORIAS	3
INDICE GENERAL	4
INDICE DE FIGURAS	6
INDICE DE CUADROS	7
RESUMEN	8
INTRODUCCIÓN	10
1 OBJETIVOS.....	12
1.1 Objetivo general.	12
1.2 Objetivos específicos.	12
2 MARCO TEÓRICO	13
2.1 Antimicrobianos.	13
2.1.1 Generalidades.	13
2.1.1.1 Tipos de antimicrobianos.....	14
2.1.2 Clasificación según:	14
2.1.2.1 Origen.....	14
2.1.2.2 Efecto.	15
2.1.2.3 Espectro de actividad.	15
2.1.2.4. Resistencia.....	15
2.1.3 Normatividad.	16
2.1.3.1 Dosis.	18
2.2 Orégano.....	20
2.2.1 Generalidades.....	20
2.2.2 Características morfológicas y anatómicas de la planta.....	21
2.2.3 Clasificación taxonómica.	22
2.2.4 Usos y composición química.	22
2.2.4.1 Aceite esencial.	23
2.2.4.2 Obtención.	24
2.2.4.3 Características y componentes del aceite.	25
2.2.4.4 Fracción timol carvacrol.....	26
2.2.5 Importancia económica del orégano.	27

2.3 Pollo.....	29
2.3.1 Importancia.....	29
2.3.2 Tipos de producción	29
2.3.2.1 Aves de granja.	30
2.3.2.2 Aves de corral.	30
2.3.3 Sacrificio.....	30
2.3.4 Producción.	31
2.3.5 Clasificación comercial del pollo.....	33
2.3.6 Consumo de pollo.	33
2.3.7. Aporte nutrimental.	34
2.3.7.1. Contaminación de carne de pollo.	35
2.3.8. Principales agentes causales de las toxiinfecciones en pollo.....	35
2.3.8.1. Descripción microscópica y macroscópica condiciones de aislamiento e identificación clínica.	36
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	40
3.1. Etapa 1: Evaluación de la actividad antimicrobiana en mesófilos aerobios.	40
3.1.1. Obtención del aceite esencial de orégano.....	40
3.1.2. Valoración de la actividad antimicrobiana.	40
3.1.2.1. Preparación de las muestras de carne y conteo de mesófilos aerobios.	41
3.2 Etapa 2. Evaluación de la actividad antimicrobiana en patógenos.....	41
3.2.1. Viabilización de cepas patógenas.	41
3.2.2. Inoculación de la carne con Salmonella y Staphylococcus aureus.	41
4.- RESULTADOS.	42
4.1. Etapa 1 Evaluación de la actividad antimicrobiana en mesófilos aerobios.	42
4.1.1. Determinación de la fracción con mejor actividad antimicrobiana en refrigeración.	42
4.1.2. Determinación de la fracción con mejor actividad antimicrobiana en ambiente.....	45
4.2. Etapa 2: Evaluación de la actividad antimicrobiana contra patógenos.....	48
4.2.1. Efecto de la concentración de aceite esencial ante Salmonella thipy en carne de pollo bajo condiciones de refrigeración.	48
4.2.2. Efecto de la concentración de aceite esencial ante Staphylococcus aureus en carne de pollo bajo condiciones de refrigeración.	50
4.2.3. Efecto de la concentración óptima de aceite esencial ante <i>E. coli</i> en condiciones de refrigeración.....	52
5.- Discusiones	55
6.- Conclusiones.....	57
7.- Anexos.	59
8.- Bibliografía	66

INDICE DE FIGURAS

Figura	Pág.
1 Orégano (<i>Lippia berlandieri</i>).....	20
2 Sistema de arrastre por vapor convencional.	25
3 Estructura química del timol y carvacrol.....	26
4 Producción nacional de pollo.....	32
5 Clasificación comercial del pollo.....	33
6 Consumo per cápita de carne de pollo.....	34
7 Crecimiento microbiano en función del tiempo y concentración.....	43
8 Crecimiento microbiano en función del tiempo y las diferentes fracciones	44
9 Crecimiento microbiano en función al tiempo y concentración.....	46
10 Crecimiento microbiano en función a las fracciones y tiempo.....	¡E
rror! Marcador no definido.	
11 Efecto de <i>Salmonella thipy</i> ante diferente concentración y tiempo.....	49
12 Efecto de <i>Salmonella thipy</i> ante diferente fracción y tiempo.	49
13 Efecto de <i>Staphylococcus aureus</i> en función a la concentración y tiempo.	51
14 Efecto de <i>Staphylococcus aureus</i> ante diferente fracción y tiempo	51
15 Efecto de <i>E.coli</i> ante diferente concetracion y tiempo	53
16 Efecto de <i>E. coli</i> ante diferente fracción y tiempo	54

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Conservadores químicos (GRAS)	18
2	Sustancias provenientes de plantas con actividad antimicrobiana	19
3	Clasificación Taxonómica del orégano.....	23
4	Composición química del orégano	23
5	Actividades biológicas de orégano.....	26
6	Condiciones de crecimiento de <i>Salmonella Typhi</i>	37
7	Límites de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
8	Límites de crecimiento de <i>Escherichia coli</i>	39
9	Concentraciones de timol-carvacrol en cada fracción.	40
10	Medias del Log 10 de ufc/ml bajo condiciones de refrigeración	42
11	Medias de las ufc/ml en condiciones de medio ambiente.....	45
12	Medias del crecimiento microbiano de <i>Salmonella thipy</i>	49
13	Medias del crecimiento microbiano de <i>Sthaphylococcus aureus</i>	50
14	Medias del crecimiento microbiano de <i>Escherichia coli</i>	53

RESUMEN

Actualmente la conservación de alimentos ha tomado una gran importancia ya que, las expectativas de los consumidores son más exigentes en los alimentos que consumen dando como consecuencia que la industria alimentaría se ve en la necesidad de encontrar alternativas para cumplir con dichas expectativas.

Se busca en la actualidad alimentos que respondan a las necesidades de nutrición, la fácil preparación y semejantes a lo natural por lo que el objetivo de este trabajo es de probar la capacidad antimicrobiana de las diferentes fracciones de aceite esencial del orégano sobre la principal flora contaminante y patógena de la carne de pollo mediante análisis microbiológicos en laboratorio, ya que este aceite contiene compuestos activos como el timol y carvacrol probando diferentes concentraciones de cada una de las cinco fracciones. Los análisis microbiológicos se realizaron mediante estrictas condiciones de asepsia para prevención de posible contaminación.

Se realizaron tratamientos bajo condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente (30° C) y de refrigeración (4° C) para el caso de mesófilos aerobios aplicando a las carnes en cuestión las cinco fracciones a evaluar, en concentraciones de 0.00, 0.05, 0.10 y 0.15 % respectivamente para ser monitoreadas a tiempos de 0, 24, 72, 96 y 120 hrs. sembrando en cajas petri por duplicado a fin de determinar tanto la fracción como la concentración a la cual se ejerce el mayor efecto inhibitorio, dando como resultando que las fracciones 3 y 4 con el uso de las concentraciones de 0.10 y 0.15% fueron las que mostraron mayor efecto inhibitorio de acuerdo al conteo de mesófilos aerobios, donde los niveles alcanzados por las carnes sometidas a estos tratamientos resultaron ser inferiores, siendo esas diferencias estadísticamente significativas, al someterse al análisis de varianza.

Una vez determinadas tanto la fracción (fracciones 4 y 3) como la concentración óptima (0.10 y 0.15) en los mesófilos aerobios se procede a evaluar la reacción de la flora patógena de carne de pollo con las fracciones que presenta mayor inhibición y con la aplicación de concentraciones de aceite esencial mas altas, pues se tienen datos de que la *Salmonella* es mas resistente por lo que consideramos la aplicación de 0.15 y 0.20%, estos fueron aplicados sobre carnes previamente inoculados con patógenos contaminantes de carne de pollo (*Salmonella thipy*, *Escherichia coli* y *Sthaphylococcus aureus*).

Las carnes una vez inoculadas fueron almacenadas en condiciones de refrigeración, a concentraciones de 0.0, 0.15, 0.20 % de aceite esencial de orégano con las fracciones 3 y 4, monitorizándose a tiempos de 0, 24, 72, 96 y 120 hrs. respectivamente, sembrados en cajas petri en agar selectivo, para el posterior conteo de U.F.C. Una vez obtenidas las cuentas de los diferentes tratamientos, estos se sometieron a un análisis de varianza donde los valores que se tomaron en cuenta para los análisis estadísticos fueron: fracción, concentración, tiempo, y μ de crecimiento para conocer a fondo el comportamiento de todos los valores en función al efecto antimicrobiano o inhibitorio y así determinar la fracción y concentración óptima para la carne de pollo.

Obteniendo que el uso de la fracción 4 es la más efectiva ya que causa un mayor inhibición actuando de diferente forma en cada uno de los microorganismo destacando a *Salmonella* con un microorganismo resistente ya que la concentración de 0.15% manifiesta decrementos no significativos y a 0.20% fue la que causó mejor efecto; de la misma forma actúa con *Sthaphylococcus aureus* dando que el crecimiento microbiano fue afectado de manera notable logrando que la las 120 hrs., en cuanto a *Escherichia .coli* presento sensibilidad a la concentración de 0.15% donde la proliferación fue de 0 a las 120hrs. seguida de la concentración de 0.20%

INTRODUCCIÓN

La contaminación de los alimentos es un problema serio para la industria, debido a que da lugar a la aparición de productos inaceptables para el consumo humano.

La producción industrial de los alimentos es un proceso que se desarrolla a gran escala, razón por la cual las consecuencias de pérdidas por contaminación microbiana son elevadas y altamente costosas. Este fenómeno generalmente es un proceso mixto, en el que participan bacterias, hongos y levaduras. Para dicho problema se manifiestan alternativas de conservación ya sean métodos físicos tales como la refrigeración, congelación etc; o químicos como lo son la aplicación de sulfitos, sulfatos, nitritos, nitratos, etc; dentro de estos encontramos a los antimicrobianos.

Un antimicrobiano generalmente es definido como un agente de conservación en un alimento capaz de inhibir y/o destruir el desarrollo de microorganismos que son los responsables del deterioro de un alimento. Pues bien con un objetivo como éste la industria alimentaria se ve en la necesidad de aplicar este método para asegurar la vida del alimento por mas tiempo; solo que actualmente los consumidores requieren alimentos de los cuales se pueda disponer en mejores condiciones por mas tiempo si no que, exigen alimentos mínimamente procesados, es decir que sea lo mas parecido a un alimento natural, con la necesidad de cumplir con este tipo de expectativa para el consumidor la industria alimentaria requiere un antimicrobiano natural que garantice al consumidor que su uso no causa daño, puesto que por ser de origen natural puede ser fácilmente metabolizado por el organismo sin causar daño a corto y/o largo plazo.

La necesidad de encontrar un compuesto que reúna tales características se ve orientada a compuestos fenólicos; los cuales se reportan en diversas investigaciones que son encontrados generalmente en plantas aromáticas tales como lo son el romero, el clavo, la canela, el orégano e incluso la vainilla,

siendo de gran interés el orégano, ya que éste es un cultivo que no es muy exigente pues se encuentra de manera silvestre y no requiere de cuidados especiales para su producción y recolección.

El orégano es una fuente muy importante de aceite esencial donde destacan compuestos tales como lo son el timol y carvacrol que tiene la función de actuar como antimicrobianos y antioxidantes.

Las enfermedades transmitidas por alimentos han sido motivo de preocupación pues la fuente que causa la enfermedad es la degradación del alimento donde generalmente las bacterias provocan una alteración y al ser consumido tiene efecto en el organismo; dentro de los alimentos de origen animal están las carnes donde generalmente el consumo de carne es muy alto.

El pollo es una de las carnes más consumidas ya que es un producto muy económico, versátil y se puede consumir de varias formas además de ser una fuente de proteína fácilmente digerible y con una cantidad de grasas relativamente bajas; resulta preocupante que un producto con tales características también sea responsable de una enfermedad influyendo de manera decisiva la forma de conservación.

El uso del timol-carvacrol es una excelente alternativa solo que es importante considerar que su uso debe ser demostrado bajo una investigación en la que se determine dosis, y una fracción óptima para dicha conservación en la carne de pollo.

OBJETIVOS

1.1 Objetivo general

- Probar la capacidad antimicrobiana de las diferentes fracciones timol-carvacrol extraídas del aceite esencial del orégano (*Lippia berlandieri*), sobre flora contaminante y patógena de carne de pollo.

1.2 Objetivos específicos

- Valorar la actividad antimicrobiana de cinco fracciones timol-carvacrol obtenidas a partir de orégano (*Lippia berlandieri*) en carne fresca variando dosis y condiciones de almacenamiento.
- Determinar la concentración óptima de la fracción timol-carvacrol para la conservación de carne de pollo
- Evaluar la efectividad antimicrobiana de la fracción timol-carvacrol en carnes inoculadas con los principales agentes patógenos: *Salmonella thypi*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

MARCO TEÓRICO

2.1 Antimicrobianos

El uso de un antimicrobiano es considerado un aditivo químico que es capaz de inhibir y/o destruir flora responsable de la degradación de un alimento (Anónimo¹, 2005).

2.1.1 Generalidades

Los aditivos químicos están presentes en más de dos terceras partes de los alimentos que se consumen, por lo que se ha convertido en un negocio redituable para la industria alimentaria; en la actualidad se encuentran más de 2,500 sustancias que son añadidas en los alimentos las cuales en su mayoría son artificiales.

La producción de antimicrobianos genera una fuente de ingresos económicos muy importantes a nivel mundial. Tan solo en Estados Unidos en 1991 se consumieron 37.5 millones de kilogramos de conservadores y esta cifra a aumentado año con año. Se estima que a nivel mundial el consumo de antimicrobianos aumenta aproximadamente un 4.1 % anualmente; siendo los más utilizados los sorbatos, propianatos y benzoatos (Morales, 2005).

Los antimicrobianos cumplen con una función de conservación ya que contribuyen a que el alimento pueda preservar sus cualidades organolépticas por más tiempo, combatiendo no solo la proliferación de microorganismos degradadores del alimento sino contrarrestando la proliferación de patógenos que actualmente son los responsables de las conocidas enfermedades transmitidas por alimentos siendo los microorganismos una parte importante que vigilar.

La alternativa de un antimicrobiano como agente conservador de alimentos ha generado polémica en la población por lo general lo asocian con problemas toxicológicos, alérgicos o resistencia bacteriana (FAO, 2004).

2.1.1.1 Tipos de antimicrobianos.

Debido a la diversidad de flora contaminante en el medio que nos rodea y las formas en que se puede distribuir ésta, existen medios para eliminar y/o contrarrestarla según el objetivo.

Para esto es importante conocer el de cada uno de los tipos de antimicrobianos ya que éstos son la base para dirigirlos a alguna actividad específica.

- a) Desinfectantes: se pueden definir como aquellos que se aplican a sistemas inanimados y eliminan la carga microbiana total.
- b) Sanitizantes: éstos generalmente son aplicados a sistemas inanimados pero su uso solo disminuye la carga microbiana total.
- c) Antisépticos: la aplicación de éstos reduce y controla la presencia de microorganismos principalmente patógenos y solo se puede aplicar a seres vivos en piel o mucosas.
- d) Antimicrobianos de uso sistémico: reducen y controlan la presencia de microorganismos que han invadido tejidos; actúan en el organismo, pudiendo ser ingeridos, absorbidos por piel y/o inyectados.

Los antimicrobianos de uso sistémico son los que principalmente pueden ser utilizados en los alimentos como medio de conservación y éstos pueden ser clasificados de acuerdo a algunas de sus características de origen.

2.1.2 Clasificación según:

2.1.2.1 Origen.

- a) Naturales: es la sustancia que es obtenida a partir de hongos bacterias y plantas.
- b) Sintéticos: la forma de obtención de este antimicrobiano se basa en una síntesis química.
- c) Semisintéticos: éstos se obtienen por modificaciones a los naturales con el fin de mejorarlos.

2.1.2.2 Efecto.

- a) Bacteriostático: es cuando la máxima concentración del antimicrobiano logra impedir la multiplicación microbiana; es decir no son destruidos, después de un tiempo desaparece el antimicrobiano y pueden reproducirse nuevamente los microorganismos.
- b) Bactericida: la concentración aplicada logra inhibir totalmente el desarrollo de los microorganismos ya que su acción es letal y pierde irreversiblemente su viabilidad.

2.1.2.3 Espectro de actividad.

- a) Amplio: es decir que generalmente actúan sobre un gran número de especies microbianas.
- b) Intermedio: estos su acción es limitada a un número de microorganismos.
- c) Reducido: estos solo actúan sobre un número muy específico de especies microbianas (Anónimo²,2005)

2.1.2.4. Resistencia.

La resistencia a los antimicrobianos es un fenómeno biológico que ocurre de manera natural, pero que se ha amplificado enormemente debido al uso inapropiado y negligente.

El uso es un factor importante ya que por mencionar un ejemplo tenemos el caso de los países ricos, donde el uso indiscriminado de antimicrobianos afecta a tal grado que con el paso del tiempo se observa que la aplicación ya no tiene efecto; de la misma forma en países pobres donde se consume un antimicrobiano económico como alternativa, generando que solo afecte a microorganismos débiles y dando oportunidad a que se multipliquen microorganismos fuertes y por lo tanto se generen otros más resistentes. (OMS, 2000)

Destacando de manera importante cada una de las características del microorganismo ya que son diversos los mecanismos de defensa, considerando como los más trascendentales los llevados de la siguiente forma:

- Inactivación enzimática de los antibióticos, como es el caso de las enzimas beta lactamasas. En este caso la enzima, elaborada por la bacteria, inactiva a la molécula de la droga volviéndola incapaz de actuar. Hay que tener presente que este mecanismo es el único capaz de inactivar a la molécula del antimicrobiano.
- Impermeabilidad de la membrana o pared celular. Por ejemplo modificaciones en las porinas, lo que repercutirá en resistencias de bajo nivel a diversos antimicrobianos.
- Modificación del sitio blanco del antibiótico en la bacteria. En algunos casos hay una reducción de la afinidad del receptor por la molécula del antimicrobiano. (García, 1997)

Los microorganismos resistentes que se desarrollan en el ganado se pueden transmitir al hombre a través de los alimentos contaminados. Por ejemplo, cada vez son más frecuentes las cepas resistentes de *Salmonella* y otros microorganismos de los alimentos.

La resistencia antimicrobiana ha sido tema de debate durante años sin que se alcanzara un consenso, lo que requiere la colaboración de diferentes sectores: sanidad y producción animal, salud humana y la industria farmacéutica. (Anónimo³ 2005).

2.1.3 Normatividad.

El Codex acordó en forma provisional la creación de un grupo de trabajo para tratar la cuestión referente a los antimicrobianos.

La OMS (Organización mundial de la salud), la FAO (food and agriculture organization) y la OIE (Organización Mundial de Salud Animal) han desarrollado directrices en las que se aconseja un uso moderado de antimicrobianos en las enfermedades humanas y la producción animal.

Estas organizaciones serán los encargados de aplicar estas medidas para garantizar la inocuidad de los alimentos (Rome, 2005).

La cantidad así como su uso es regulado por la FDA (food drug administration), FAO y la OMS. Según estas organizaciones, el uso intencional de un aditivo debe ser limitado para producir el efecto deseado.

La cantidad mínima de aditivos se establece por los siguientes factores:

- El nivel de consumo estimado del alimento o alimentos para los cuales es propuesto el aditivo.
- Los niveles mínimos en que los estudios con animales producen desviaciones significantes del comportamiento fisiológico normal.
- Un margen adecuado de seguridad para producir al mínimo cualquier riesgo para la salud de todos los grupos de consumidores.

Los consumidores deben ser informados de la presencia de aditivos en el alimento, esta información debe estar en la etiqueta del producto.

No se debe emplear cuando el aditivo no ha sido acreditado por la FAO y la OMS; también cuando no haya aprobado las pruebas físicas y químicas realizados por los expertos.

En México hace falta una vigilancia y normatividad sobre éstos. Estos incluyen a los preservadores químicos contra bacterias, levaduras y mohos como benzoato de sodio empleado en refrescos y alimentos ácidos, propionatos de sodio y de calcio empleados en panes y pasteles como inhibidores de mohos, ácidos sórbico empleado sobre quesos y en alimentos húmedos para perros a fin de controlar mohos y compuestos de cloro empleados como lavado bactericida para frutas y hortalizas.

De acuerdo a la FAO una antimicrobiano puede actuar como conservadores químicos pretenden, bien aisladamente o en combinación con otras formas de conservación, mantener los alimentos en su estado original y evitar pérdidas excesivas a causa de su deterioro (FAO, 2005)

Idealmente, un conservador químico ha de poseer un amplio espectro de actividad antimicrobiana, no ser tóxico para el hombre o para los animales, económico, no afectar el sabor y aroma del alimento original, no ser inactivado por el alimento o por cualquier sustancia del mismo, no favorecer el desarrollo

de cepas resistentes y ser capaz de destruir más que inhibir a los microorganismos.

No se ha encontrado lo que se podría llamar un conservador ideal. Actualmente, muchas de las sustancias más ampliamente utilizadas son también conservadores antiguos. Son escasos los conservadores ideales, simples y nuevos, que podrían recomendarse e incluso éstos no darían lugar a un aditivo aceptable comercialmente por una u otra razón (Rome, 2005).

2.1.3.1 Dosis.

Según organismos reguladores como lo son la FAO, FDA, OMS, Codex alimentarios no hay una dosis específica de aplicación solo se refiere que al hacer uso de un antimicrobiano se debe de tomar en cuenta que este debe estar aprobado y que su uso no sea para perjuicio del consumidor.

Debido a que en análisis de toxicidad, estos han resultado no ser perjudiciales en las dosis que son consumidos; es por eso que la FDA los ha considerado como conservadores tipo GRAS (Generally Recognized As Safe). Los cuales se encuentran citados en el cuadro No. 1.

Cuadro No.1 Conservadores químicos (GRAS)

Conservador	PPM	Organismos	Alimentos
Propionatos	300	Mohos	En panadería y algunos quesos
Acido ascórbico/sorbato	2000	Mohos	Quesos, jarabes, aderezos y gelatinas
Acido benzoico/benzoato	1000	Levaduras y mohos	Jugos de frutas, jugo de tomate, sidra de manzana
Sulfitos	500	Insectos y microorganismos	Melazas y frutas secas
Oxido de etileno y propileno	700	Levaduras, mohos y parásitos	Espicias y frutas
Nisina	10000	Bacterias lácticas y clostridios	Lácteos, Carnes, cerveza y enlatados
Nitrito sódico	120	Clostridios	Carnes curadas

Santiesteban, 2002

Al igual que los conservadores de síntesis química, existe una amplia gama de compuestos antimicrobianos naturales provenientes de plantas a los que se les ha investigado tanto las propiedades antimicrobianas como toxicológicas, para responder a la preferencia de un gran número de consumidores que demandan productos frescos y mínimamente procesados.

La FDA considera a los agentes antimicrobianos de origen natural como compuestos tipo “GRAS” donde figuran productos vegetales de los que se obtienen aceites esenciales, oleorresinas y extractos naturales. La mayoría de los compuestos con actividad antimicrobiana de origen natural, son compuestos fenólicos, terpenos, alcoholes alifáticos, aldehídos, cetonas, ácidos e isoflavonas. (Hernández, 2003).

Los compuestos antimicrobianos de las plantas (Cuadro 2) se encuentran generalmente en el aceite esencial obtenido a partir de sus hojas, flores, bulbos y frutos. Estos compuestos pueden ser letales para las células microbianas o simplemente servir como inhibidores de la producción de metabolitos. Los aceites esenciales se pueden obtener con destilación por arrastre de vapor, y entre otros métodos.

Cuadro No.2: Sustancias provenientes de plantas con actividad antimicrobiana

NOMBRE COMÚN	OTROS NOMBRES	PLANTA
Haldeado dinámico	3- fenilpropenal	Canela
Alil isotiocianato	Alilisosulfacianato	Mostaza
Acetol	P-propenilanniso	Hinojo
Carvacrol	2-hidroxi-p. Cimeno, isotimol P-alilfenol	Tomillo, Albahaca
P-cimenol	Isopropil-tolueno	Tomillo
Cineol	Eucaliptol	Laurel, Romero
Citral	3,7 dimetil-2-6 octadienal	Limón
Eugenol	4-alil-2-metoxifenol	Clavo
Geranoil	3,7 dimetil-3-hidroxi, 1,6-octadieno	Limón, Albahaca
Linatol	3,7-dimetil-3hidroxi, 1,6-octadieno	Albahaca, Cilantro
Mentol	Hexahidrotimol	Menta
Pineno	2,6,6-trimetil biciclo (3.1.1.)-2hepteno	Orégano y Perejil
Terpineol	x-Terpineol	Mejorana
Timol	5-metil-4-hidroxibenzaldehído	Vainilla

Santiesteban, 2002

2.2 Orégano

El orégano (*Lippia berlandieri*) cuya imagen se muestra en la Figura No. 1, es objeto de estudio según sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas en la industria alimentaria.



Silva, 2003

Figura 1: Orégano (*Lippia berlandieri*)

2.2.1 Generalidades.

El nombre de orégano proviene de la palabra griega “Origanum” y se deriva de dos palabras “oros” montaña y “ganos” alegría; en alusión a la apariencia que le da esta planta a los lugares donde crece. (CONABIO, 2005).

El orégano, es una planta originaria de México conocida con varios nombres tales como orégano del cerro, orégano cimarrón, orégano silvestre, el orégano mexicano recientemente ha adquirido importancia económica debido a que su materia seca útil es exportada a Estados Unidos y en menor proporción a Italia y Japón.

Con el nombre de orégano se conoce a diversas especies de plantas, las especies más importantes desde el punto de vista económico son: *Lippia berlandieri*, *Origanum vulgare* y *Lippia palmeri*. (Silva, 2003)

2.2.2 Características morfológicas y anatómicas de la planta.

El orégano es una planta vivaz, con cuatro a seis pedúnculos por nudo, flores en espiga subglobosa, corolas blancas o amarillentas, zigomorfas; estambres 1.2 a 2 m de altura (Huerta, 2005)

Para clasificar el orégano se han identificado 11 especies de oréganos éstas diferentes especies son dadas por sus características morfológicas tales como lo son los tipos de flor, la forma y la textura. Las hojas brotan de dos en dos en cada nudo, enfrentadas, son enteras, ovaladas, acabadas en punta, también se recubren de pelusilla por ambas caras y su longitud es de hasta 4 centímetros (Catonga, 2006).

Las flores se disponen en verticilastros que forman espiguillas de hasta 3 centímetros; las flores son muy pequeñas (los pétalos no sobrepasan los 2 ó 3 milímetros de longitud), de color violeta rosado, unas gotitas de un líquido amarillento aromático. Están protegidas por bractéolas de hasta 5 milímetros, de contorno oval y color verdoso o purpúreo.

Los cálices se presentan amarillentos y las corolas son bilabiadas de color blanco, rojizo o purpúreo. Toda la planta desprende un agradable y particular aroma. Su sabor, por contra, es amargo. Florece en verano, de julio a octubre, y su fruto es un tetraquenio con cada parte ovoidea y lisa, es seco y globoso.

Su distribución generalmente es encontrada en Guerrero, San Luis Potosí, Puebla, Hidalgo, Zacatecas, Chihuahua, Oaxaca, Coahuila, Durango, Nuevo León, Sonora, México y Tamaulipas (Silva; 2003).

2.2.3 Clasificación taxonómica.

De acuerdo a las características morfológicas, al orégano establecido en el sur de Chihuahua le corresponde la siguiente clasificación (Cuadro 3).

REINO	VEGETAL
Categoría	Metaphyta
División	Tracheopyta
Subdivisión	Pteropsida
Superclase	Spermathopyta
Clase	Angiospermas
Subclase	Dicotiledoneae
Serie	Gamopetalas
Orden	Lamiales
Familia	Verbenaceae
Género	Lippia
Especie	berlandieri

Silva, 2003

Cuadro No 3: Clasificación Taxonómica del orégano.

2.2.4 Usos y composición química

Tradicionalmente el uso de orégano ha sido solo de aplicación culinaria es decir para conferir sabores a algunas comidas típicas (pozole, birria, pizzas, espagueti, etc.) de las diferentes regiones de México.

También se destaca por su uso analgésico, antiinflamatorio, antipirético, sedante, antidiarreico, tratamiento de infecciones cutáneas, antifúngico, tratamiento de desórdenes hepáticos, diurético, antihipertensivo, remedio de desórdenes menstruales, antimicrobiano, repelente, antimalaria, antiespasmódico, tratamiento de enfermedades respiratorias, de sífilis y gonorrea, contra la diabetes, abortivo y anestésico local (Pascual, et al, 2001).

La composición química generalmente ésta dada por las características de la planta (cuadro No. 4).

Cuadro No 4: Composición química del orégano

PROTEÍNA	11.7%
Grasa	6.4%
Fibra cruda	11%
Carbohidratos	53.9%
Cenizas totales	9%
Cenizas insolubles en acido	1%
Calcio	1.9%
Vitamina A	1010 u/100G
Vitamina B1	0.31
Vitamina B2	0.41
Niacina	6.2%
Vitamina C	12MG/100g
Valor calórico	360 cal/100g
Aceites volátiles	.15-0.40%
Taninos	0.8%

Silva, 2003

2.2.4.1 Aceite esencial.

Los aceites esenciales son la quinta esencia de la planta, “sus hormonas vegetales” son la reserva energética que ayuda a proteger y reforzar la inmunidad de la especie vegetal. El aceite esencial es generalmente un producto muy complejo que contiene la sustancia del vegetal; son producidos especialmente por plantas aromáticas, la mayor parte de ellas los contienen (Catonga, 2006).

La porción de sustancia varía de un aceite a otro e incluso dentro de la misma especie dándoles propiedades medicinales y toxicidad característica para cada planta. Los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas por lo que un metabolismo más activo puede asociarse con una mayor producción de aceites (Wilkins, 1998).

Algunos autores señalan que la gran variabilidad en la composición química de los aceites esenciales es debida, sobre todo, al origen del material más que a la influencia del medio ambiente. Otros autores otorgan un papel más preponderante al medio ambiente, sobre todo en lo referente a densidad de planta sembrada, estación del año en el corte y a la cantidad de agua usada en el riego, o incluso a la cantidad de luz artificial o natural usada en el cultivo de la planta en invernadero (Putiessky, 1996).

2.2.4.2 Obtención

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas por lo que un metabolismo más activo puede asociarse con una mayor producción de aceites (Wilkins, 1998). En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas y ésteres), sustancias azufradas y nitrogenadas. Los compuestos más frecuentes se les clasifica en monoterpenoides y sesquiterpenoides (Rota, 2004).

Los métodos convencionales (Figura 2) utilizados para la extracción de aceites esenciales son la destilación con arrastre de vapor y el uso de solventes orgánicos. En los últimos años ha crecido el interés por la extracción supercrítica y subcrítica con dióxido de carbono como solvente. Este gas es ideal, ya que no es tóxico ni explosivo y es fácil de remover de los productos extraídos. Los rendimientos de extracción generalmente van desde el 1.8% hasta el 5.6% (Mc Gimpsey, 1993).

En cuanto a su composición se han logrado identificar hasta 56 compuestos, y se han encontrado diferencias cuantitativamente significativas en sólo dos fenoles isoméricos, carvacrol (0.1-56.6%) o fenol no-cristalizable y timol (7.9-53.6%) o fenol cristalizable; incluyéndose sus precursores biosintéticos el t-terpineno y el p-cimeno. Algunos autores señalan que el aceite con mayor cantidad de carvacrol es el preferido.

Se han encontrado contenidos de timol superiores al 30% en muestras de orégano (*L. graveolens* Kunth) recolectadas en el estado de Jalisco. Donde obtuvieron el aceite esencial de *Lippia graveolens* por hidrodestilación y encontraron 45 compuestos que constituyeron el 92-93% del aceite. Los componentes principales fueron carvacrol (71%) y timol (5%).

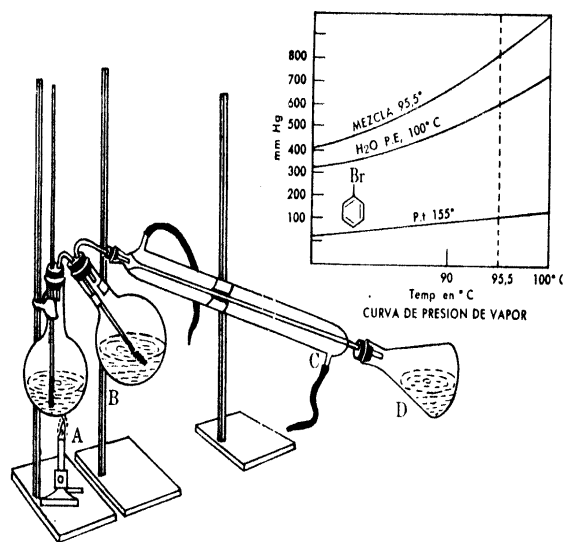


Figura No. 2: Sistema de arrastre por vapor convencional.

2.2.4.3 Características y componentes del aceite

Las características organolépticas de los aceites esenciales pueden estar dadas por los componentes mayoritarios, aunque en otros casos son las sustancias trazas las que definen el sabor, olor o propiedades terapéuticas. La composición química puede ser desde muy simple hasta muy compleja.

Las mezclas de componentes de los aceites esenciales corresponden mayoritariamente a dos grupos principales: compuestos terpénicos (la gran mayoría) y los derivados aromáticos fenilpropánicos (compuestos con núcleo bencénico).

Cuadro No. 5: Actividades biológicas de orégano.

ACTIVIDAD	GENERO
Antioxidante	Origanum
	Lippia
Antimicrobiana	Origanum
	Lippia
Antiparasítica	Lippia
Estrogénica	Origanum
Antigenotóxica	Origanum
	Lippia
Insecticida	Origanum

Huerta, 2005

2.2.4.4 Fracción timol carvacrol

Dentro de los componentes del aceite esencial de orégano se encuentra los principales que son el timol y carvacrol (Figura No. 3) mismos que a continuación se muestra su estructura química (Rastrelli, 1998).

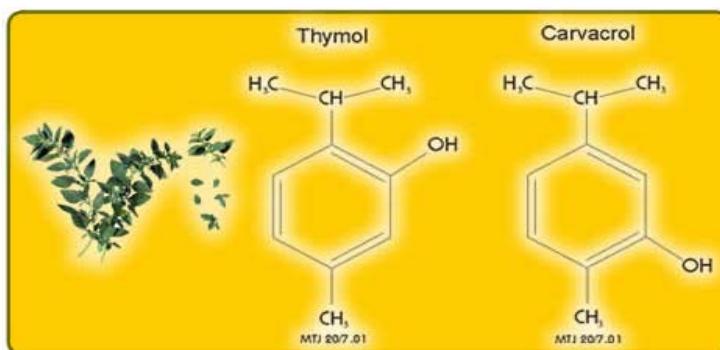


Figura No. 3: Estructura química del timol y carvacrol

Dichos componentes tienen conocidas propiedades antioxidantes, asociadas al timol y al carvacrol, además de las fungicidas, bactericidas y citotóxicas.

Recientemente se ha comprobado que el aceite esencial de orégano frena el crecimiento de los gérmenes que se multiplican en épocas de calor (entre ellos *Escherichia coli*, *Salmonella* y *listeria*) en forma eficaz.

Un estudio reciente sobre hierbas culinarias y medicinales identificó al orégano como la hierba con la más alta actividad antioxidante, aún mayor que la vitamina E (Zheng, W. Et al. 2002).

2.2.5 Importancia económica del orégano

Las perspectivas económicas de este recurso, a través de su proceso agroindustrial, son muy promisorias, siempre y cuando se pueda garantizar una producción uniforme del orégano, tanto en su calidad como en el volumen. Dado que el orégano es un recurso silvestre de zonas con alto grado de marginación, es necesario que se realice un manejo adecuado de este recurso, para garantizar un desarrollo sustentable en las regiones donde se produce. Así como asegurar que se eleve el nivel socioeconómico de importantes núcleos de población cuyos ingresos actualmente son escasos e irregulares (Morales, 2005)

De las casi 4 000 ton de orégano que se recolectan anualmente, la mitad son reguladas por dependencias oficiales y comercializadas a Estados Unidos principalmente. El 50% restante se extrae en forma clandestina y se exporta a diferentes países, bajo aranceles falsos, de los que no se tienen datos precisos del precio obtenido. Obviamente esto no beneficia al productor, al que se le paga el producto a precios ínfimos.

Nuestro país ha participado durante una década con 35 ó 40% de la producción mundial en el mercado internacional, lo que lo ubica como el principal productor de esta especia.

El segundo lugar lo ocupa Turquía con el 30% y el tercer lugar Grecia, con el 22.5% aproximadamente. El comercio del orégano mexicano se realiza principalmente con Estados Unidos, al cual se exporta alrededor del 85% de la producción nacional; el 10% va al mercado doméstico y el 5% a países europeos y asiáticos. La aceptación del orégano mexicano se explica por su calidad, expresada en su gran poder saborizante (Huerta, 2005).

El Orégano es una especie de alta adaptabilidad a gran variedad de suelos y climas, lográndose cosechas de buena rentabilidad, tanto en deshidratados como en aceites esenciales. Llegando a tener el aceite esencial un precio de 180 a 500 dls por litro, debido a esto la comercialización de éste se convierte en un negocio rentable, siendo los principales compradores Estados Unidos, Francia, Italia y España, además de ser utilizado como antimicrobiano en la conservación de alimentos, también se utiliza en licorería, perfumería, antirreumático, pomadas contra la dermatitis, etc. (Silva, 2003).

Como se ha dicho anteriormente la conservación de los alimentos ha sido importante desde tiempos remotos convirtiéndose esta actividad en una necesidad, además de un negocio con ganancias atractivas, el abastecimiento de los alimentos se ve afectado por el crecimiento de la población mundial. Así es posible hacer que los alimentos básicos en la dieta puedan traspasar fronteras sin el temor de que éstos llegarán en mal estado ya que la alimentación constituye uno de los factores para mantener una buena salud, a fin de lograr este objetivo la dieta debe contener una serie de nutrientes que encontrados en diversos alimentos. (Desroisier, 1987).

2.3 Pollo

El pollo es la carne cuyo consumo ha crecido más en los últimos 20 años, siendo ya la segunda a nivel mundial después de la de cerdo, (Catonga, 2006), aunque otros (UNA, 2004) autores citan que ocupa el primer lugar. En España, al igual que en la Unión Europea y en América, la producción de carne de pollo está cambiando muy rápidamente en proporción a su consumo solo que el sistema de producción se ve en la clara necesidad de hacer cambios en la mecanización de las granjas.

2.3.1 Importancia

El grado de importancia del pollo radica en su contenido nutrimental ya que su consumo se asocia con la disminución de enfermedades pues debido a que la carne de ave es rica en proteína que es fácilmente digerible lo que da como resultado la disminución de cáncer de colon en comparación con la carne de res y cerdo.

Además la cantidad de ácidos grasos es un factor que no causa daños en el organismo; ya que al igual que la proteína y sus demás componentes son fácilmente digeribles y asimilables, considerando sobre todo un bajo precio (Anónimo⁸, 2005).

Por otro lado se debe considerar trascendental su precio, el cual es muy accesible por lo que ésta al alcance de la población, sin olvidar que es posible cocinarlo en muy variadas formas.

2.3.2 Tipos de producción

El consumidor es parte fundamental de éste depende el éxito de su consumo la importancia de conocer sus gustos y preferencia para tratar de lograr la satisfacción de sus necesidades y lograr el objetivo principal de la venta del producto en cuestión; la producción de pollo es digna de llamar la atención pues precisamente debido al origen de la carne el consumidor asegura un grado de calidad y seguridad en su consumo aún cuando están en

juego otros factores como lo son el sabor y los tipos de cuidados a los que ha sido sometido antes de ser sacrificado.

2.3.2.1 Aves de granja

Este es el que es criado en una granja, cuyo crecimiento es cuidado desde su nacimiento hasta el sacrificio. Tal como lo establece la ley, considerando su alimentación y estado de salud así como el mantenimiento permanente de las medidas higiénico sanitarias en las instalaciones necesarias para el desarrollo sano y equilibrado.

2.3.2.2 Aves de corral

Este pollo generalmente es alimentado con granos, su vida transcurre al aire libre; no hay un control específico de la alimentación y salud así que no se puede garantizar el estado de salud del animal; solo que el consumidor considera que este tipo de pollo es más sabroso y con un contenido de grasa menor (Anónimo⁷, 2005).

2.3.3 Sacrificio

El sacrificio es una de las partes importante a considerar en la producción de carne de pollo ya que de éste depende el grado de calidad de la carne; pues la forma de sacrificio influye de gran manera en una contaminación que dará como resultado carne de baja calidad por un gran número de flora contaminante lo que provocará el deterioro mas rápido de la misma.

Una vez en el matadero, todas las etapas de la carnización son importantes desde el punto de vista higiénico, siendo el escaldado y, sobre todo, el desplumado y la evisceración las más delicadas. Las aves vivas se cuelgan de sus patas de la cadena de sacrificio y esta operación supone un forcejo y la producción de una gran cantidad de polvo y microorganismos en el ambiente del área de colgado.

En el desangrado, la hoja del cuchillo o aparato utilizado puede diseminar las bacterias de unos animales a otros. El escaldado produce una dilatación de los folículos que facilita la posterior eliminación de las plumas.

Durante esta operación, cada ave transfiere al agua millones de bacterias procedentes de la piel, patas, plumas y contenido intestinal.

El desplumado es el principal punto de contaminación cruzada, tanto por microorganismos fecales como procedentes de la piel, plumas y suelo, siendo esta etapa en la que se puede dar la contaminación con patógenos de importancia como *Campylobacter spp*, *E.coli* y *Salmonelas*.

La evisceración manual es una operación en la que es frecuente la contaminación cruzada entre las canales, a través de las manos de los operarios, utensilios y equipo.

La moderna maquinaria empleada para la evisceración automática es más segura en este sentido. La inspección post mortem no permite detectar las canales contaminadas con microorganismos patógenos para el hombre.

El lavado de las canales después del desplumado y de la evisceración y antes del enfriado sustituye la capa de líquido superficial de las canales por una de agua limpia. Durante esta operación se eliminan por arrastre muchos microorganismos y se reduce su contaminación superficial en un 90% aproximadamente.

Durante el almacenamiento en refrigeración, se observa un aumento en el número de microorganismos psicrotrofos.

La duración de la vida útil de las canales de pollo está en relación con el grado de contaminación inicial y con las condiciones de almacenamiento (Anónimo⁹, 2004).

2.3.4 Producción

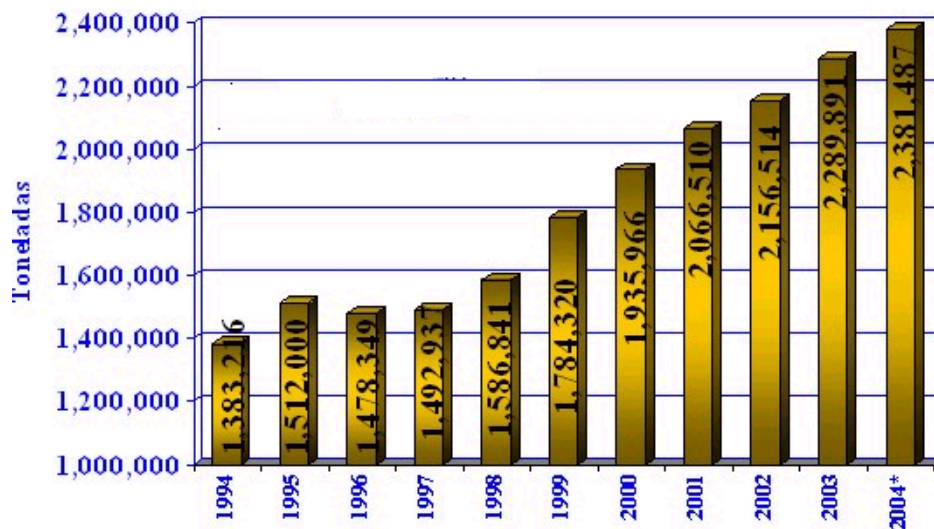
La producción de pollo en México, durante el período de 1994 a 2004 ha aumentado a un ritmo de crecimiento anual del 5.6% (Figura No. 3). El 90% de la producción de carne de pollo en México durante 2004, se concentró en 10 estados, localizados principalmente en el centro del país, donde se encuentran los principales centros de consumo. Donde destacan los estados de Veracruz, Querétaro, Aguascalientes, Jalisco, y la Comarca Lagunera que son los que concentran el 49% de la producción.

En México las importaciones de carne de pollo de 1994 a 2004 crecieron a una tasa promedio anual de 6.3% pasando de 142 mil toneladas en 1994 a 262 mil en 2004.

En nuestro país los estados productores de pollo son Jalisco, Querétaro, Coahuila, Durango, Puebla, Nuevo León, Edo. de México, Guanajuato, Yucatán, Aguascalientes y Sinaloa. Al cierre del 2004, la producción de pollo en México, criado con técnicas tradicionales, fue de 2.4 millones de toneladas. Las empresas más importantes en el sector son: Bachoco (mexicana), Tayson y Pilgrim's (estadounidenses), según la Unión Nacional de Avicultores. (anonimo⁸, 2004)

Por otro lado, la carne de ave se ha venido demandado en forma creciente desde hace 7 años aproximadamente, ya que ha resultado tener una gran aceptación dentro de la población (Figura No.3).

Figura No 4: Producción nacional de pollo

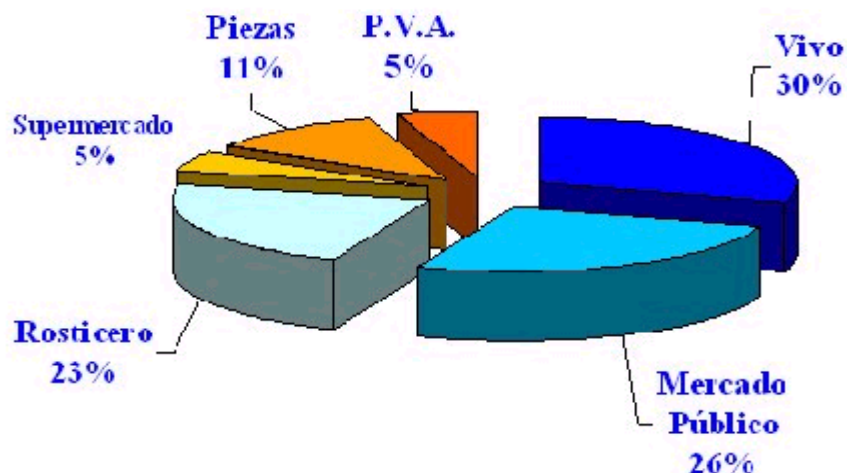


UNA, 2004

Esto debido al precio accesible al que se vende este producto. Este aumento en el consumo de la carne de pollo ha repercutido directamente en la producción de carne de bovino, a pesar de que la producción avícola ha sido variable debido a algunos problemas que ha tenido la industria en lo que se refiere a producción de aves y enfermedades de las mismas (Anónimo⁴, 2005).

2.3.5 Clasificación comercial del pollo

El consumo de pollo ha aumentado considerablemente; debido a su versatilidad pero su distribución en el mercado está dada precisamente por su consumo (figura No. 5). Es por eso que el consumo de pollo va dirigido a diferentes mercados.



UNA, 2004

Figura No. 5: Clasificación comercial del pollo

2.3.6 Consumo de pollo

La carne de pollo es muy fácil de digerir, más incluso que la de pavo. Además, por su versatilidad en el modo de cocinado, es un alimento muy adecuado en dietas de control de peso. La carne de pollo es una de las más bajas en purinas, así que limitando la cantidad a 80 - 100 gramos por ración, puede formar parte de la dieta de personas con hiperuricemia (ácido úrico elevado).

En México el consumo per-cápita de pollo ha aumentado de 19.9 Kg. en 2000 a 23.4 Kg. durante 2004, lo que representa un incremento del 17%. (Figura No. 6)

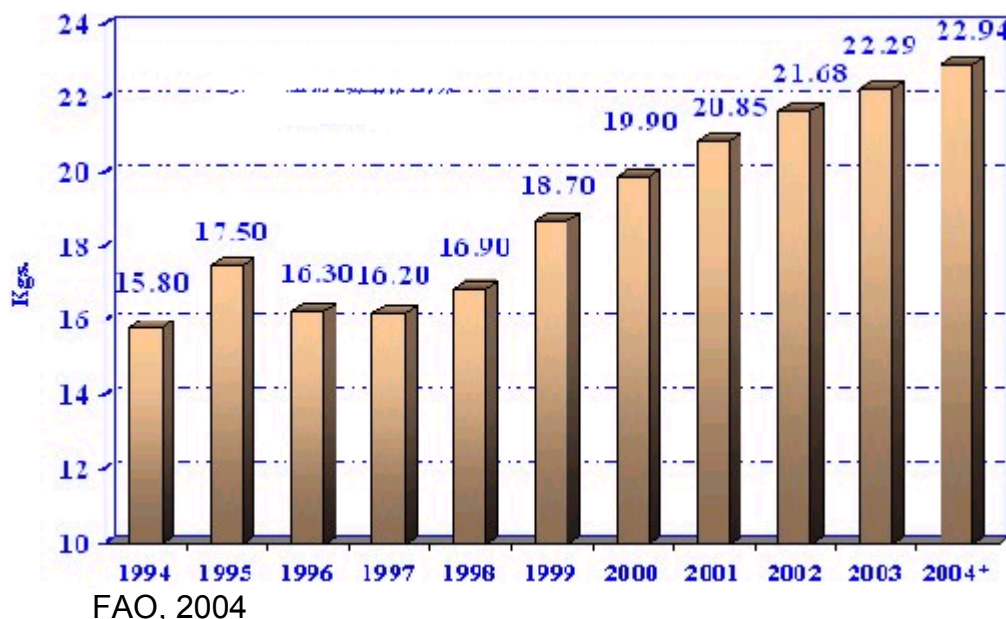


Figura No. 6: Consumo per cápita de carne de pollo.

2.3.7. Aporte nutrimental

Se pueden apreciar variaciones en la composición de la carne, en función de la edad del animal sacrificado. Los ejemplares más viejos son más grasos. También existen diferencias en la composición de las distintas piezas cárnicas, como en el caso de la pechuga, cuyo contenido en proteínas es mayor que el que presenta el muslo. El contenido, distribución y composición de la grasa del pollo es similar al del resto de las aves de corral. Respecto al contenido vitamínico, destaca la presencia de ácido fólico y vitamina B3 o niacina. Entre los minerales, el nivel de hierro y de zinc es menor que en el caso de la carne roja, aunque supone una fuente más importante de fósforo y potasio (Rodríguez ,2003)

2.3.7.1. Contaminación de carne de pollo

El proceso de industrialización del sector avícola ha permitido llegar a un grado de automatización excelente. Estas mejoras técnicas no han influido en una mejora de la calidad microbiológica de la carne. Más bien, contribuyeron a aumentar aún más la carga microbiana de las canales de ave, ya de por sí importante al tratarse de animales que no se desuellan. El hacinamiento de los animales en los sistemas intensivos de la cría y la implantación de grandes plantas de sacrificio y procesado facilitan la difusión de los microorganismos, especialmente de las bacterias enteropatógenas, de unos animales a otros y de unas canales a otras, lo que influye negativamente en la calidad microbiológica final de la carne de ave. Todas y cada una de las etapas en el proceso de obtención de la carne deben de ser analizadas como factores que pueden ser causa de la contaminación (anonimo⁵, 2003).

2.3.8. Principales agentes causales de las toxiinfecciones en pollo.

La carne de pollo es un alimento frecuentemente implicado en brotes y toxiinfecciones alimentarias.

Existen una serie de grupos microbianos cuya evaluación en la superficie de las canales puede indicar la calidad microbiológica, el grado de higiene en los procesos de obtención y posterior manipulación de las mismas o el correcto mantenimiento de la cadena del frío, así como ayudar a predecir la vida útil del producto (Anonimo⁶, 2003).

La flora aerobia mesófila (son aquellos microorganismos que crecen a temperaturas medias) ha sido utilizada como criterio para predecir la vida media. Además, los microorganismos mesófilos pueden ser indicadores de un inadecuado procesado.

Los microorganismos psicrotrofos (microorganismos que crecen a temperaturas de refrigeración) son especialmente importantes en aquellos productos que se conservan refrigerados. Algunos de ellos pueden causar modificaciones organolépticas, como olores anormales muy variados.

Las pseudomonas son los microorganismos principalmente responsables de la alteración superficial de la carne de pollo refrigerada en atmósferas aerobias.

La mayor parte de las enterobacterias presentes en la superficie de las canales procede de contaminación de origen fecal y su presencia en niveles elevados puede indicar una manipulación poco higiénica y/o un almacenamiento inadecuado.

Los mohos y las levaduras están distribuidos ampliamente en el ambiente y pueden llegar a los alimentos a través del equipo o aire contaminados. Aunque la escasa vida útil de la carne de pollo limita estas repercusiones de la contaminación fúngica, puede provocar infecciones o incluso desencadenar reacciones alérgicas. La determinación de coliformes y de *E. coli* en las canales de pollo tiene únicamente el significado de indicación de la calidad higiénica del producto.

Dentro de la flora considerada como de preocupación en la carne de pollo, al igual que en todas las carnes, es la de las enterobacterias que se da por malas condiciones de procesamiento dando como resultado que la carne cause efectos desagradables al consumidor; en el caso del pollo es muy conocida la *Salmonella* y el *Staphylococcus*, principalmente registradas en América latina, sin embargo, actualmente en la región Europea, destaca la intoxicación por *Campylobacter* a tal grado que está superando al de *Salmonella*.(Rodríguez, 2003).

2.3.8.1. Descripción microscópica y macroscópica condiciones de aislamiento e identificación clínica.

Cada uno de los microorganismos tiene diferentes necesidades para su desarrollo óptimo, al igual que sus formas de manifestación; *Salmonella typhi*, *Campylobacter spp*, *Shigella* *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, son algunos de los microorganismos con importancia creciente para la salud pública, como responsables de enfermedades de transmisión alimentaria (Murray, 1995).

- ***Salmonella typhi***

Salmonella fue descubierta por Ebert en 1880 y aislado en 1884 por Graffky; es un género de la familia enterobacteriaceae y se caracteriza como bacilo corto, es una bacteria Gram negativa y anaerobia facultativa no esporulada.

Las formas móviles poseen flagelos peritricos, producen ácido y en ocasiones también producen gas de la glucosa, suelen ser catalasa positiva, oxidasa negativa y también reducen los nitratos a nitritos. Generalmente se encuentran en el tracto intestinal del hombre y de los animales (Malvran,2003).

Salmonella typhi es la especie responsable de la fiebre tifoidea, considerada como la enfermedad más grave producida por este género.

Tiene un período de incubación de 10 – 20 días, Se contempla que la dosis infectante normalmente es de 10 a 100 células; la sintomatología que presenta incluye fiebre, dolor de cabeza, sensibilidad abdominal, constipación y aparición de manchas elevadas de color rojo en la superficie del cuerpo.

Para el aislamiento de *Salmonella typhi* es necesario un enriquecimiento en caldo no selectivo y posteriormente un enriquecimiento selectivo en medio sólido que permita su proliferación en la microflora a la vez que inhibe el crecimiento de otros microorganismos. Los medios selectivos más utilizados para el aislamiento de esta especie son: Agar verde brillante, Agar S.S. y Agar sulfito bismuto.

Las condiciones de crecimiento Cuadro No. 8 son consideradas como parte fundamental en el conocimiento de un microorganismo siendo éstas las que influyen su ciclo de vida.

Cuadro No. 6. Condiciones de crecimiento de *Salmonella Typhi*

FACTOR / RANGO	MÍNIMO	ÓPTIMO	MÁXIMO
Temperatura °C	5	36	45
PH	3.8	7-7.5	9.5
Aw	0.94	0.99	> 0.92

INEI, 2003 (Instituto nacional de enfermedades infecciosas)

- **Staphilococcus aureus**

Los *Staphilococcus* fueron descritos por primera vez por el cirujano escocés Sir Alexander Ogston. *Staphilococcus aureus* son cocos Gram-positivo que forman agrupaciones irregulares y células globosas u ovoides de 1 µm de diámetro aproximadamente. Pertenecen a la familia bactereaceae se caracteriza por ser catalasa positiva, oxidasa negativa y anaerobios facultativos. Su capacidad para fermentar la glucosa se puede utilizar para diferenciarlos del género *Micrococcus* que es estrictamente respiratorio (Adams y moss, 1997). El género *Staphylococcus* es un microorganismo oportunista omnipresente, encontrándose en la mucosa y en la piel de la mayoría de los animales de sangre caliente.

La intoxicación estafilococica es producida por las exotoxinas designadas como A, B, C1, C2, C3, D y E. La sintomatología presenta un periodo de incubación de 2 a 4 hrs. Los síntomas predominantes son vómito, dolor de estomago, deshidratación y en algunos casos postración, la intoxicación estafilococica tiene un periodo de curación de 1 a 2 días.

Para el aislamiento de *Staphylococcus aureus* se emplea caldo de enriquecimiento como TSB, Caldo Cerebro corazón, Caldo Púrpura de bromocresol y en medios sólidos principalmente se utiliza Agar Chapman o Agar Baird parker.

En el cuadro No. 7 se muestran los parámetros optimos para el desarrollo de este microorganismo.

Cuadro No. 7: Límites de crecimiento de *Staphylococcus aureus*

FACTOR / RANGO	MÍNIMO	ÓPTIMO	MÁXIMO
Temperatura °C	7	35-37	48
pH	4.0	6-7	9.8
A _w	0.83	0.98-0.99	>0.99

Adaptado de: Microbiological specifications of food pathogens, 1998

- ***Escherichia coli***.

La bacteria *E. Coli* es un habitante universal del intestino de las personas y animales de sangre caliente; fue aislado por primera vez en 1885 por el bacteriólogo Alemán Theodor Escherich (Adams y Moss, 1997).

E. coli es un bacilo corto, Gram negativo, catalasa positivo, oxidasa negativo y no esporógeno. En la actualidad han sido relacionadas con las ETA'S cuatro especies patogénicas dentro de las cuales se encuentra *E. Coli* enteropatógena EPEC, *E.coli* enteroinvasiva EIEC, *E.coli* enterotoxigénica ETEC y *E. Coli* enterohemorrágica EHEC; esta última, se considera como la más dañina para el ser humano pues está relacionada con brotes de colitis hemorrágica (típica diarrea aguda sanguinolenta) y del síndrome urémico hemolítico (I.C.M.S.F., 1998). *E. coli* enterohemorrágica presenta un rango óptimo de crecimiento un poco menor que las demás especies, los rangos de las condiciones necesarias para su crecimiento se muestran en la siguiente cuadro No. 8

Para el aislamiento del género *Escherichia* se utiliza Caldo selenito cistina o caldo TSB como enriquecimiento y se emplean medios sólidos selectivos como Agar Mc Conkey o Agar eosin azul de metileno (EMB).

En el cuadro No. 8 se muestran los parámetros óptimos para el desarrollo de este microorganismo

Cuadro No.8: Límites de crecimiento de *Escherichia coli*

Factor / Rango	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura °C	7	35-40	46
pH	4.4	6.7	9
A _w	0.95	0.995	-

Adaptado de: Microbiological specifications of food pathogens, 1998

MATERIALES Y MÉTODOS.

El trabajo consta de dos etapas las cuales se describen a continuación con el fin de establecer las condiciones de la experimentación

3.1. Etapa 1: Evaluación de la actividad antimicrobiana en mesófilos aerobios

3.1.1. Obtención del aceite esencial de orégano

El aceite esencial de orégano consta de cinco fracciones, extraídas mediante el método de arrastre por vapor, consistente en exponer el producto a un flujo de vapor de agua que extrae los compuestos de interés. Obteniendo así, cinco fracciones, con diferentes concentraciones de timol y carvacrol (cuadro No. 9), el cual fue proporcionado por el Centro de Investigación para los Recursos Naturales (CIRENA) ubicado en Salaces, Chihuahua.

Cuadro No. 9: Concentraciones de timol-carvacrol en cada fracción.

FRACCION	CONCENTRACION	
	CARVACROL	TIMOL
1	81%	3%
2	82%	4%
3	6%	77%
4	23%	48%
5	26%	58%

3.1.2. Valoración de la actividad antimicrobiana

A fin de evaluar la capacidad inhibitoria de las cinco fracciones del aceite esencial obtenidas, se procedió a la aplicación de las mismas en carnes frescas para su posterior almacenamiento en diferentes condiciones y evaluación en función al tiempo del desarrollo microbiano siguiendo los procedimientos que a continuación se describen:

3.1.2.1. Preparación de las muestras de carne y conteo de mesófilos aerobios

Se evaluaron muestras de carne de pollo, las cuales fueron adquiridas bajo condiciones controladas en establecimientos de la ciudad de Saltillo, Coahuila. Dicha carne fue pesada y adicionada con concentraciones de 0, 0.05, 0.10 y 0.15 % de las fracciones obtenidas con diferentes proporciones de timol y carvacrol, como componentes activos, usando como vehículo aceite vegetal. Posteriormente fueron almacenadas bajo condiciones de refrigeración (4° C) y temperatura ambiente (30° C) para su evaluación en función al contenido de flora contaminante, a intervalos de 0, 24, 72 y 120 hrs. de almacenamiento con el método para la cuenta total de mesófilos fue el propuesto por la AOAC.

Los resultados arrojados del conteo de mesófilos aerobios se analizaron estadísticamente a través de un análisis de varianza y de t- student a fin de establecer tanto la fracción como la concentración a la cual se presenta la mayor inhibición del desarrollo microbiano.

3.2 Etapa 2. Evaluación de la actividad antimicrobiana en patógenos

3.2.1. Viabilización de cepas patógenas

Las cepas de *S. aureus* *E. coli* se viabilizaron mediante preenriquecimiento en caldo TSB, en tanto que para *S. typhi* se utilizó caldo de tetrionato, para el mismo fin; posteriormente fueron incubadas a 35 °C durante 12 hrs. para después ser sembradas en el agar selectivo correspondiente.

3.2.2. Inoculación de la carne con *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*

Después de determinada la fracción con mayor actividad antimicrobiana se prosiguió a la inoculación de las cepas patógenas, sobre la carne de pollo por duplicado siendo el inóculo, previamente adicionadas con la fracción de mayor actividad antimicrobiana con concentraciones de 0, 0.15 y 20%. Almacenándose en refrigeración (4 °C), para su posterior monitoreo en función al desarrollo microbiano a las 0, 24,72, 96 y 120 hrs. Los resultados arrojados del conteo de patógenos serán analizados estadísticamente a través de un análisis de varianza y mediante el método de t- student.

RESULTADOS

4.1. Etapa 1 Evaluación de la actividad antimicrobiana en mesófilos aerobios

Se aplicaron cinco fracciones del aceite esencial, conteniendo diferentes proporciones timol-carvacrol, en carne de pollo a fin de probar su actividad antimicrobiana contra mesófilos aerobios contaminantes en la carne de pollo.

Los resultados obtenidos en la cuenta de mesófilos aerobios en condiciones de refrigeración se muestran a continuación donde es posible observar el comportamiento del crecimiento microbiano en presencia de cada una de las fracciones aplicadas reflejando el efecto inhibitorio sobre los mismos evaluando la interacción entre la fracción, tiempo y concentración (Cuadro No. 10).

4.1.1. Determinación de la fracción con mejor actividad antimicrobiana en refrigeración

Cuadro No. 10.- Medias del Log 10 de ufc/ml bajo condiciones de refrigeración.

Fracción	Concentración %	Tiempo (hrs.)				
		0	24	72	96	120
1	0.00	4.20	4.63	6.83	8.06	4.20
1	0.05	4.20	3.74	5.55	7.51	8.44
1	0.10	4.20	3.75	5.50	7.40	7.29
1	0.15	4.20	3.85	5.68	7.81	8.48
2	0.00	4.21	4.57	6.93	8.15	8.09
2	0.05	4.21	4.48	6.87	7.56	7.84
2	0.10	4.21	4.43	6.85	8.02	7.71
2	0.15	4.21	4.53	6.88	8.00	7.78
3	0.00	4.23	4.28	5.76	7.20	8.45
3	0.05	4.23	3.84	4.85	7.00	5.78
3	0.10	4.23	3.29	5.50	6.35	6.11
3	0.15	4.23	3.29	5.00	6.35	5.21
4	0.00	4.10	4.60	5.30	6.59	6.87
4	0.05	4.10	4.47	5.28	6.31	5.84
4	0.10	4.10	3.69	5.04	6.27	5.06
4	0.15	4.10	3.86	5.28	6.21	5.39
5	0.00	4.17	4.71	5.09	6.70	6.84
5	0.05	4.17	4.31	4.39	5.80	6.02
5	0.10	4.17	3.52	4.27	5.61	6.23
5	0.15	4.17	4.60	4.20	4.82	2.50

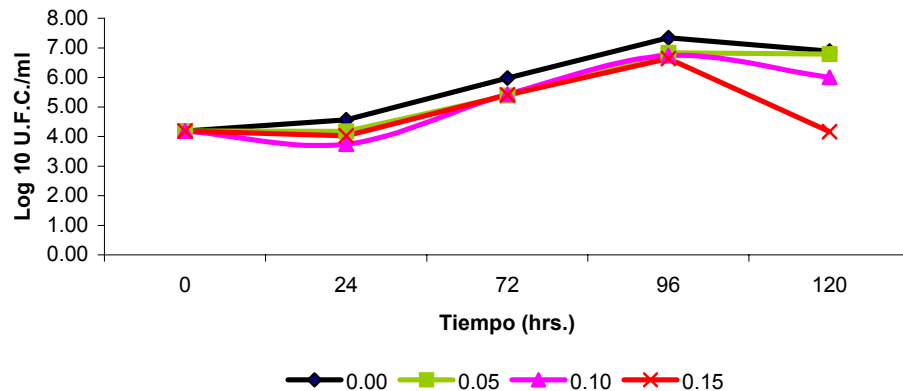


Figura No. 7: Crecimiento microbiano en función del tiempo y concentración

En la figura No. 7 es posible apreciar el efecto ejercido por la concentración sobre el conteo microbiano en función al tiempo, donde se muestra que el testigo sin adición de aceite tuvo un incremento continuo en el conteo microbiano desde las 0 hasta las 96 hrs., siendo el valor a este tiempo el más alto registrado durante todo el monitoreo, para luego tener un decaimiento a las 120 hrs., para la concentración de 0.05% se muestra un comportamiento similar al de la muestra testigo, pero con conteos microbianos estadísticamente inferiores a los observados en el testigo, así como el conteo a las 24 hrs. se mantiene en niveles estadísticamente similares a los del tiempo 0 a diferencia de la muestra testigo donde si hay incrementos significativos.

Por otro lado sobresalen los conteos obtenidos con las concentraciones de 0.10 y 0.15%, los cuales a las 24 hrs. presentan niveles estadísticamente inferiores a los presentados en el tiempo 0 para después incrementarse en los monitoreos posteriores sobresaliendo las 120 hrs. en donde los datos son estadísticamente inferiores a los presentados a este mismo tiempo con a concentración de 0 y 0.05%.

Sin embargo la concentración de 0.10 a las 24 hrs. se aprecia un notable decremento que es altamente significativo dando incluso una cuenta menor comparada con la base de la que se parte; para las concentraciones 0.05 y 0.15 en las 24 hrs. No hay una diferencia significativa.

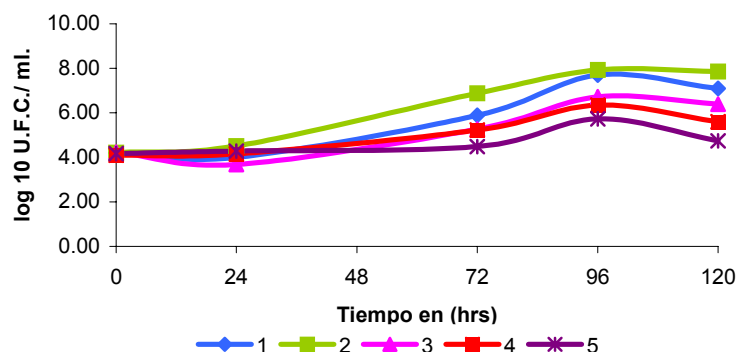


Figura No. 8: Crecimiento microbiano en función del tiempo y diferentes fracciones

La figura No. 8 muestra el efecto de cada una de las fracciones aplicadas a las carnes en función al tiempo. Donde es posible observar que la muestra tratada con la fracción dos es la que tiene el mayor incremento en el conteo de la flora aerobia, siendo este un dato estadísticamente significativo, por tanto es posible citar que esta fracción es la que resulta de menor utilidad para los fines pretendidos siguiendo el mismo comportamiento se encuentra la fracción 1 con cuentas mas elevadas que las obtenidas en los tratamientos con las fracciones 3, 4 y 5 pero inferiores que la fracción 2.

En contraste se encuentra la fracción 5 en donde es posible apreciar que los niveles alcanzados desde las 0 hasta las 72 hrs. son similares entre si para presentar un incremento a las 96 hrs. y mantenerse hasta las 120 hrs. de contacto.

Para las fracciones 3 y 4 es posible apreciar que la fracción 4 mantiene su conteo a las 24 hrs. y la fracción 3 reduce mostrándose incrementos a las 96 hrs de contacto y decaer nuevamente a las 120 hrs.

4.1.2. Determinación de la fracción con mejor actividad antimicrobiana en ambiente.

Los resultados obtenidos en la cuenta de mesófilos aerobios en condiciones de medio ambiente (Cuadro No.11) se muestran a continuación donde es posible observar el comportamiento del crecimiento microbiano en presencia de cada una de las fracciones aplicadas reflejando el efecto inhibitorio sobre los mismos evaluando la interacción entre la fracción, tiempo y concentración para definir los mejores resultados.

Cuadro No. 11: Medias de las ufc/ml en condiciones de medio ambiente

Fracción	Concentración	Tiempo (Hrs.)				
		0	24	72	96	120
1	0.00	4.20	4.96	6.77	8.33	8.52
1	0.05	4.23	4.75	4.58	8.02	8.11
1	0.10	4.23	4.86	4.60	7.52	8.94
1	0.15	4.23	4.88	6.77	8.16	8.77
2	0.00	4.20	4.97	7.12	8.30	8.97
2	0.05	4.20	4.82	6.93	8.215	8.91
2	0.10	4.20	6.72	6.93	8.13	8.64
2	0.15	4.20	4.74	6.62	8.23	8.64
3	0.00	4.23	4.99	7.27	8.785	7.92
3	0.05	4.23	4.43	5.09	6.15	6.89
3	0.10	4.23	3.98	4.70	7.00	5.92
3	0.15	4.23	4.12	5.65	6.70	5.87
4	0.00	4.12	4.94	5.99	6.96	8.96
4	0.05	4.12	4.73	4.02	5.43	5.87
4	0.10	4.12	4.64	4.48	5.44	0.00
4	0.15	4.12	4.54	4.07	5.345	4.77
5	0.00	4.20	4.90	5.76	7.10	8.93
5	0.05	4.20	4.63	4.59	6.06	6.66
5	0.10	4.20	4.57	4.70	5.79	6.25
5	0.15	4.20	4.61	4.51	5.38	6.00

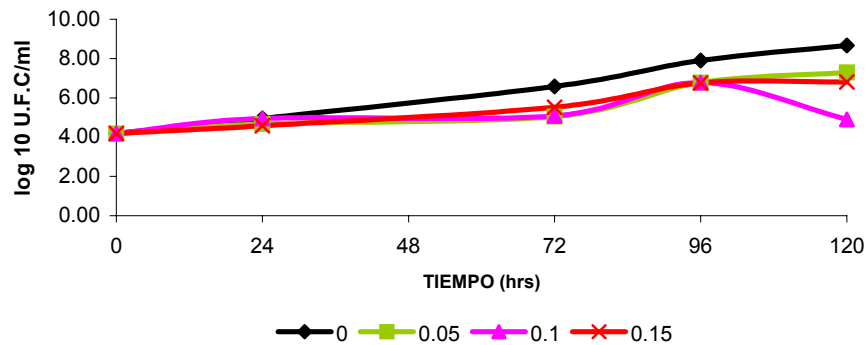


Figura No. 9: Crecimiento microbiano en función al tiempo y concentración

En la figura No. 11 se presenta el efecto de la concentración en función al tiempo, observándose una relación directamente proporcional en los incrementos de la cuenta de mesófilos aerobios con respecto al tiempo para la muestra tratada al 0.00%, teniéndose que el valor más elevado se presentó a las 120 hrs. de monitoreo y este valor es estadísticamente diferente y superior al resto de los datos. De manera similar se comporta la muestra tratada al 0.05% donde hay incrementos significativos en función al tiempo pero estadísticamente inferiores a sus respectivos al 0.00%.

En contraste se encuentran los datos generados con el tratamiento al 0.10% donde se observa un ligero incremento a las 24 hrs. de tratamiento para mantenerse en niveles estadísticamente similares hasta las 72 hrs., incrementándose nuevamente a las 96hrs. y teniendo un decremento significativo a las 120hrs. de contacto, contrario a lo observado con las otras dos concentraciones donde no se presentaron disminuciones significativas en el conteo microbiano. En cuanto al comportamiento de las muestras al 0.15%, estas presentan incrementos sostenidos y significativos a las 24 y 72 hrs. de tratamientos para mostrar una disminución a las 96 hrs. y mantenerse en niveles estadísticamente similares hasta las 120 hrs.

Por lo que es posible apreciar el efecto de las tres concentraciones con respecto al testigo al 0.00%, sobresaliendo las concentraciones al 0.10 y 0.015% las cuales al ser utilizadas lograron una disminución en el conteo microbiano, no siendo suficiente la acción ejercida al 0.05% ya que solo permite minimizar el crecimiento

microbiano en comparación con el testigo, sin presentar decrementos significativos como lo logrado al aplicar las otras dosis.

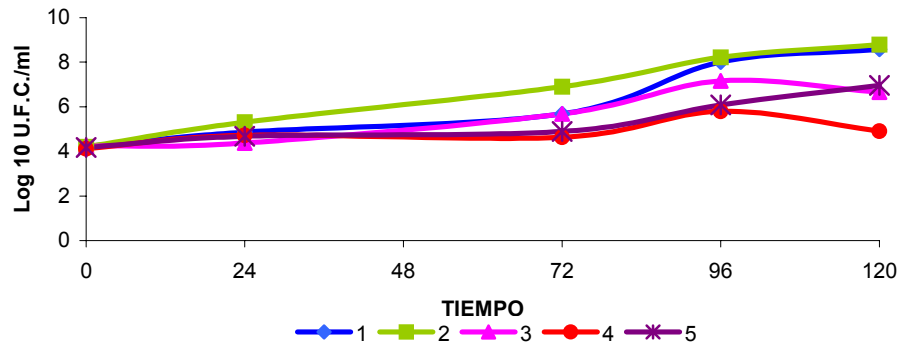


Figura No. 10: Crecimiento microbiano en función al tiempo y diferentes fracciones

En la figura No. 10 es posible apreciar que las fracciones 1 y 2 presentan un crecimiento microbiano a lo largo de las 120 hrs. no causando efecto favorable teniendo que los conteos de mesófilos aerobios son siempre estadísticamente superiores en el tratamiento con la fracción dos que con la uno de manera similar a lo presentado bajo condiciones de refrigeración.

Los efectos del aceite esencial se ven reflejados de manera eficaz en las fracciones 3, 4 y 5 ya que los niveles microbianos son estadísticamente inferiores a sus respectivos obtenidos con las fracciones 1 y 2, de estas tres fracciones la 4 es la que presenta los menores conteos microbianos a lo largo del monitoreo teniendo que el conteo de las 24 a 72 hrs. se mantiene constante para tener un ligero incremento a las 96 hrs. y una reducción significativa a las 120hrs. de contacto siendo este el valor más bajo obtenido a este tiempo y seguido por el presentado con la adición de la fracción 3.

4.2. Etapa 2: Evaluación de la actividad antimicrobiana contra patógenos

Una vez evaluada la actividad antimicrobiana frente a los mesófilos aerobios, se procedió a valorar el efecto de las fracciones 3 y 4, debido a que presentaron la mayor efectividad en los ensayos anteriores, a concentraciones de 0.10, 0.15 y 0.20%, ante los patógenos comúnmente colonizadores de carnes de pollo bajo condiciones de refrigeración, teniéndose que la concentración de 0.20% se estudió en base a recomendaciones de trabajos anteriores

4.2.1. Efecto de la concentración de aceite esencial ante *Salmonella thipy* en carne de pollo bajo condiciones de refrigeración

Cuadro No.12: Medias del crecimiento microbiano de *Salmonella thipy* sobre carnes de pollo con y sin adición de antimicrobiano natural

Fracción	Concentración	Tiempo (Hrs.)				
		0	24	72	96	120
3	0.00	3.380	3.450	3.805	3.915	4.005
3	0.15	3.380	3.445	3.720	3.905	3.900
3	0.20	3.380	3.390	3.500	3.645	3.390
4	0.00	3.475	3.630	3.745	3.975	4.095
4	0.15	3.475	3.570	3.600	3.665	3.690
4	0.20	3.475	3.565	3.590	3.455	3.055

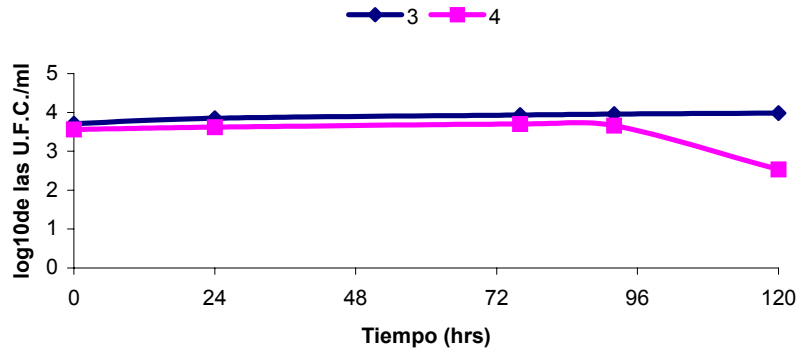


Figura No. 11: Efecto de *Salmonella thipy* ante diferente fracción (3y4) y tiempo

Los datos arrojados (figura No. 11) permiten observar que la fracción 3 logró mantener los conteos de *Salmonella thipy* en números estadísticamente similares las primeras 24 hrs. para posteriormente incrementarse a las 72 y 96 hrs. de monitoreo manteniéndose en conteos estadísticamente similares a las 120 hrs.

Contrastantemente se puede observar que la fracción 4 permitió un ligero incremento en el conteo de *Salmonella thipy* a las 24 hrs. para posteriormente mantenerse en esos niveles a lo largo del estudio, niveles que son estadísticamente inferiores a los obtenidos con el tratamiento con la fracción 3.

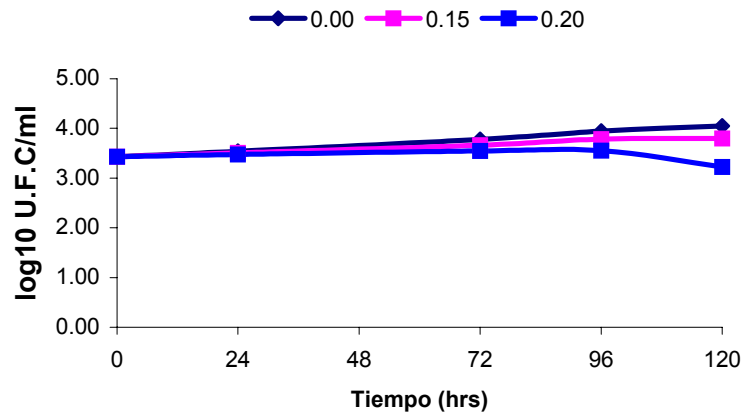


Figura No.12: Efecto de *Salmonella thipy* ante diferente concertación (0.00, 0.15 y 0.20) y tiempo (0,24,72,96,120 hrs.).

El efecto de *Salmonella thipy* (figura No. 12) ante las diferentes concentraciones permite apreciar una clara sensibilidad del microorganismo en cuestión a la concentración de 0.20% ya que los conteos se mantienen en niveles estadísticamente similares a lo largo del tratamiento presentando ligeros decrementos a las 72 y 96 hrs. para obtener resultados estadísticamente inferiores a los iniciales a las 120 hrs. de contacto, a diferencia de lo que ocurre en la concentración de 0.00% donde se observa un crecimiento sostenido y constante en función al tiempo para alcanzar su máximo nivel a las 120 hrs. de monitoreo.

4.2.2. Efecto de la concentración de aceite esencial ante *Sthaphylococcus aureus* en carne de pollo bajo condiciones de refrigeración.

Cuadro No.13: Medias del crecimiento microbiano de *Sthaphylococcus aureus* sobre carnes de pollo con y sin adición de antimicrobiano natural

Fracción	Concentración	Tiempo (Hrs.)				
		0	24	72	96	120
3	0.00	3.705	3.895	3.965	4.005	4.185
3	0.15	3.705	3.830	3.920	3.935	3.980
3	0.20	3.705	3.830	3.920	3.935	3.765
4	0.00	3.560	3.665	3.735	3.895	4.065
4	0.15	3.560	3.595	3.695	3.590	3.540
4	0.20	3.560	3.585	3.670	3.495	0.000

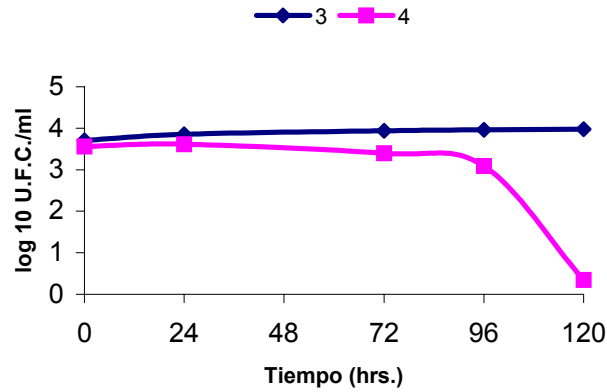


Figura No. 13: Efecto de *Staphylococcus aureus* en función a la concentración y tiempo.

De la misma forma el crecimiento del microorganismo se ve mas claramente afectado ante la fracción 4 logrando decrementos incluso inferiores que el número inoculado llegando a conteos de 0 a las 120 hrs. (Figura No. 14)

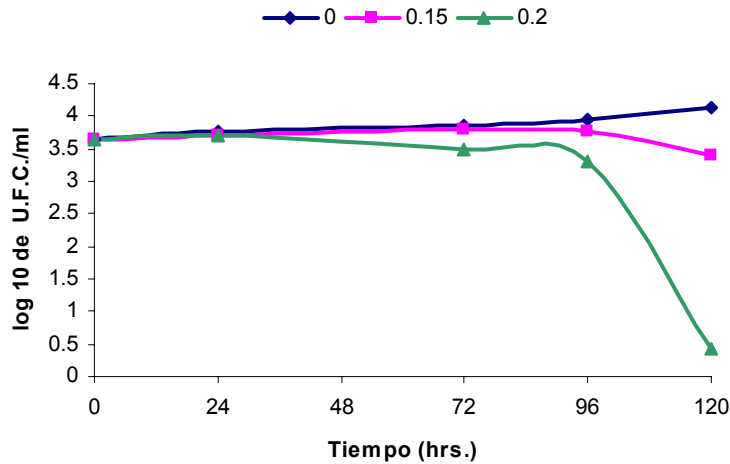


Figura No. 14: Efecto de *Staphylococcus aureus* ante diferente concentración y tiempo

El efecto de *Staphylococcus aureus* (Figura No. 14) ante las diferentes concentraciones permite apreciar la sensibilidad del microorganismo en función a la concentración de 0.20% ya que los conteos se mantienen en niveles estadísticamente similares a lo largo de tratamiento presentando ligeros decrementos a las 72 y 96 hrs. siendo estos no significativos para luego obtener que los conteos a las 120 hrs. de contacto se encuentran en ceros, a diferencia de lo que ocurre en la

concentración de 0.00% donde se observa un crecimiento sostenido y constante en función al tiempo para alcanzar su máximo nivel a las 120 hrs. de monitoreo; con respecto al la concentración de 0.15 % es posible citar que en el no se manifiesta crecimiento significativo ya que este logra mantenerse a lo largo del tiempo, presentando un ligero incremento a las 72 hrs. de monitoreo manteniéndose estas cuentas hasta las 120 hrs.

4.2.3.1. Efecto de la concentración óptima de aceite esencial ante *E. coli* en condiciones de refrigeración.

Cuadro No.14: Medias del crecimiento microbiano de *Escherichia coli*. Sobre carnes de pollo con y sin adición de antimicrobiano natural

Fracción	Concentración	Tiempo (Hrs.)				
		0	24	72	96	120
3	0.00	4.38.	4.40	4.45	4.49	4.58
3	0.15	4.38	4.00	4.20	4.04	3.85
3	0.20	4.38	3.85	4.20	4.15	4.15
4	0.00	4.38	4.54	4.65	4.85	4.98
4	0.15	4.38	4.89	4.00	3.70	0.00
4	0.20	4.38	4.40	4.30	4.08	4.18

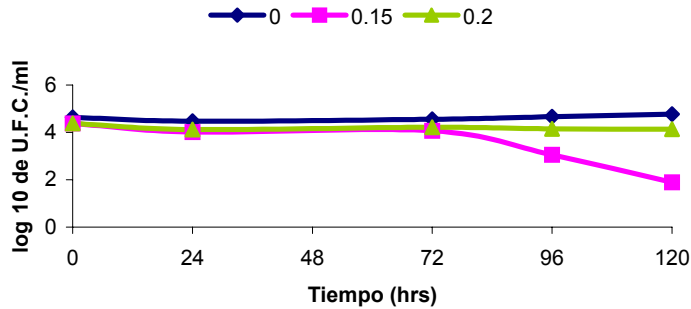


Figura No. 15: Efecto de *E.coli* ante diferente concentración y tiempo

El efecto de las concentraciones en función (Figura No. 15) al desarrollo microbiano permite apreciar un claro efecto debido a que la muestra sin tratamiento presenta un crecimiento sostenido en función al tiempo a diferencia de lo presentado con el tratamiento al 0.20% donde es posible apreciar que a las 24 hrs. los niveles alcanzados son estadísticamente similares a los presentados en el tiempo 0 para posteriormente disminuir significativamente a las 72 hrs. incrementándose ligeramente sin alcanzar el nivel inicial y volver a decrecer a las 120 hrs. de contacto a niveles inferiores a los iniciales. En cuanto al tratamiento al 0.15% se puede citar los cambios presentados en el conteo microbiano no presentan diferencias estadísticamente significativas de las 0 a las 24 hrs. siendo el valor a las 72 hrs. similar al de las 24 hrs. pero superior que a las 0 hrs. y de las 96 a 120 hrs. se mantienen al mismo nivel de significancia de acuerdo al análisis de varianza efectuado ($p \leq 0.05$).

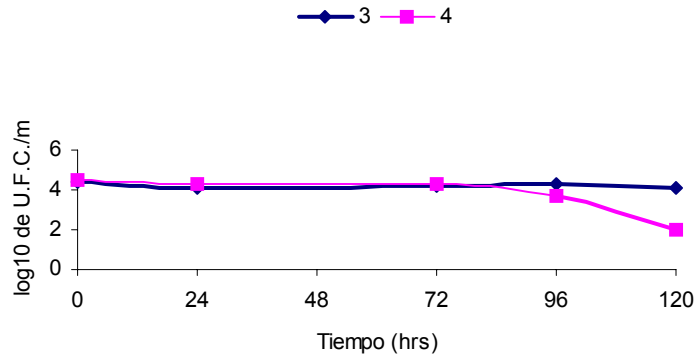


Figura No.16: Efecto de *E. coli* de diferente concentración y tiempo

En cuanto al efecto de la fracción por el tiempo (Figura No. 16) es posible apreciar que la fracción que muestra mejores resultados es la fracción 4 ya que comparando estadísticamente los datos mediante el análisis de varianza efectuado se puede apreciar que los conteos microbianos a lo largo del tiempo son siempre inferiores a los obtenidos en los mismos tiempos por la fracción 3.

DISCUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el experimento realizado con carne de pollo adicionada con diferentes fracciones de aceite de orégano, bajo condiciones de almacenamiento en ambiente y refrigeración, se encontró que el aceite esencial de orégano es efectivo para la inhibición de flora contaminante típica en la carne de pollo, siendo la fracción 4 la que tuvo un mayor efecto antimicrobiano reduciendo la carga hasta cero a las 120 hrs. en ambiente, aunque no de la misma forma en refrigeración; presentando un comportamiento similar, pero en menor cantidad, con la fracción 5 en la cual se presentan reducciones microbianas importantes en ambas condiciones de almacenamiento; de igual forma la fracción 3 funciona de manera eficiente ya que se logran decrementos significativos. Dichas fracciones reducen la carga microbiana de la carne y la mantiene constante, no siendo así para las fracciones 1, y 2 las cuales no afectan el conteo microbiano con reducciones significativas.

Los resultados concuerdan con trabajos presentados anteriormente donde también se obtiene que la mejor es la fracción 4, seguida por la 5 y 3, y con menor efectividad las fracciones 1 y 2 debido a las proporciones en las que se encuentra el timol y carvacrol ya que causa efectos sinergistas, lo cual concuerda con los estudios realizados en la UDLA donde se evaluaron mezclas ternarias y cuaternarias con estos compuestos, además de que se usaron antimicrobianos sintéticos y su actividad antimicrobiana se comportó de manera similar (Campomanes, 2003).

Así mismo la dosis en la cual el efecto inhibitorio fue mayor es en la de 0.10 y 0.15% ya que éstas reducen la carga considerablemente presentándose este comportamiento en todas las fracción usadas, seguida de la de 0.05 %, en algunos casos esta concentración no tuvo ningún efecto

Los patógenos estudiados en el trabajo fueron *Salmonella Typhi*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, los cuales presentan notable sensibilidad a la concentración de 0.20% seguida de la de 0.15%.

Salmonella typhi presentó mayor sensibilidad al aceite de orégano en la concentración de 0.20% reduciendo la carga bacteriana ya que su aplicación en 0.15% presenta menor sensibilidad por lo que Morales en el 2006 recomienda el uso de una concentración superior, similar a lo reportado por la Universidad de Gante, para un estudio in vivo (Rota: et al 2004) donde indican una reducción a cero en el conteo microbiano en hojas de lechuga, así como por la Universidad de Oklahoma en el estudio antes citado donde se observa inhibición a concentraciones de 0.15 y 0.20%, siendo que este microorganismos baja su cuenta a valores indetectables.

Así mismo sucede para *Staphylococcus aureus* el cual presenta una disminución importante en el contenido microbiano para las concentraciones usadas siendo éstas significativamente iguales, pero la que tuvo mayor inhibición fue la de 0.20%, lo cual concuerda con los estudios realizados por la Universidad Autónoma de Chihuahua, donde en dicho experimento se manejaron CMI y CMB para los patógenos anteriormente mencionados y de los cuales *S. aureus* muestra las más bajas concentraciones tanto inhibitorias como bactericidas (Maguregui; et al 2004).

CONCLUSIONES

Como se ha mencionado anteriormente el aceite de orégano tiene una actividad antimicrobiana, inhibiendo así la proliferación microbiana encontrada normalmente en los alimentos.

Con el presente trabajo y las investigaciones previas, se puede establecer que el extracto obtenido de la hoja del orégano (*Lippia berlandieri*) posee poder antimicrobiano, ya que el comportamiento ante la flora contaminante (*Mesófilos aerobios*) y patógena (*Salmonella*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*), presentó buenos resultados, pero lo más importante es que inhibe el crecimiento de patógenos, por lo cual es posible determinar que la fracción óptima para este caso resultó ser, la “cuatro” seguida de la “tres” y “cinco” respectivamente, ya que en la cuenta de mesófilos aerobios fueron las que resultaron óptimas, a una concentración del 0.10%, seguida de la concentración de 0.15 %.

Es posible concluir que los compuestos activos del aceite esencial de orégano trabajan mejor de manera sinergistas ya que fracción 4 presenta concentraciones de 23 y 48% respectivamente de timol-carvacrol dando conteos de 0 en condiciones de ambiente y en refrigeración, seguidas por la fracción cinco con 26% de timol y 58% de carvacrol.

Por otra parte se puede citar que el timol ejerce un mayor efecto inhibitorio que el carvacrol al utilizarse de manera independiente ya que la fracción tres, que contiene una alta proporción de timol 77% y solo 6% de carvacrol, presentó mayor efectividad que las fracciones uno y dos, ricas en carvacrol (81% y 3 y 82% y 4% timol carvacrol respectivamente).

En función a patógenos la dosis óptima resultó ser la concentración de 0.20 %, para las dos fracciones seguida de la concentración de 0.15%, y la fracción óptima resultó ser la cuatro seguida de la tres, para la flora contaminante patógena, demostrado en los resultados obtenidos mediante el análisis estadísticos a que se sometieron los tratamientos de carne de pollo, obteniendo resultados estadísticamente significativos para la investigación realizada.

Por tal motivo se puede concluir que el aceite esencial se encuentra dentro de un área de oportunidad, tanto por su uso tradicional como su uso en el área industrial, esto debido a la actitud que están tomando los consumidores en la adquisición de alimentos que contienen agentes antimicrobianos de origen natural. Por lo anterior se puede contemplar que las tendencias en la industria de alimentos se centra en técnicas que sean más viables para la conservación de los alimentos y aceptado por los consumidores.

Anexos.

Respuesta de Log 10 del crecimiento en refrigeración

CONCENTRACIÓN * TIEMPO

t-student

Nivel								Cuadrado de Mo.
0.00,96	A							7.3388926
0.00,120		B						6.8895143
0.05,96		B	C					6.8358602
0.05,120		B	C					6.7865800
0.10,96		B	C					6.7306700
0.15,96		B	C					6.6397293
0.10,120			C					6.4810480
0.00,72				D				5.9807644
0.15,120				D				5.8714588
0.10,72					E			5.4315638
0.15,72					E			5.4073981
0.05,72					E			5.3880269
0.00,24						F		4.5575199
0.15,0						F	G	4.1805333
0.00,0						F	G	4.1805333
0.05,0						F	G	4.1805333
0.10,0						F	G	4.1805333
0.05,24						F	G	4.1676531
0.15,24							G H	4.0259167
0.10,24							H	3.7376373

FRACCIÓN * TIEMPO
t- student

Nivel										Cuadrado de Mo
2,96	A									7.9335782
2,120	A									7.8541066
1,96	A									7.6968882
1,120		B								7.1030984
2,72		B								6.8827775
3,96		B	C							6.7244850
3,120			C							6.3876117
4,96			C							6.3461597
1,72				D						5.8894204
4,120				D	E					5.7918276
5,96				D	E					5.7303289
5,120					E	F				5.3991072
3,72						F				5.2771855
4,72						F				5.2245320
2,24							G			4.5054075
5,72							G			4.4857761
5,24							G	H		4.2863537
3,0							G	H		4.2278791
2,0							G	H		4.2068175
1,0							G	H		4.2003553
5,0							G	H		4.1660980
4,24							G	H		4.1535789
4,0							G	H	I	4.1015164
1,24								H	I	3.9923680
3,24									I	3.6732008

Respuesta de log 10 del crecimiento en ambiente

**CONCENTRACIÓN *TIEMPO
t-student**

Nivel										Cuadrado de mo.	
0.00,120	A									8.6610000	
0.00,96		B								7.8960000	
0.05,120			C							7.2900000	
0.15,120				D						6.8150000	
0.10,96				D						6.7780000	
0.05,96				D						6.7760000	
0.15,96				D						6.7630000	
0.00,72					E					6.5830000	
0.10,120						F				5.9520000	
0.15,72							G			5.5260000	
0.10,72								H		5.0840000	
0.05,72								H		5.0420000	
0.10,24								H		4.9570000	
0.00,24								H		4.9540000	
0.05,24									I	4.6730000	
0.15,24									I	4.5800000	
0.05,0										J	4.1890000
0.10,0										J	4.1890000
0.15,0										J	4.1890000
0.00,0										J	4.1860000

FRACCIÓN * TIEMPO
t-student

Nivel																	Cuadrado de mo.
2,120	A																8.7937500
1,120		B															8.5887500
2,96			C														8.2187500
1,96				D													8.0075000
3,96					E												7.1587500
5,120						F											6.9612500
2,72						F											6.9025000
3,120							G										6.6525000
5,96								H									6.0850000
4,96									I								5.7962500
1,72									I								5.6800000
3,72									I								5.6787500
2,24										J							5.3137500
4,120											K						4.9012500
5,72											K						4.8912500
1,24											K	L					4.8662500
4,24												L	M				4.7150000
5,24													M				4.6775000
4,72													M				4.6412500
3,24														N			4.3825000
3,0														N	O		4.2300000
1,0														N	O		4.2225000
2,0															O		4.2000000
5,0															O		4.1737500
4,0															O		4.1150000

Resultados del crecimiento de patógenos en Log 10 de U.F.C.

Salmonella

**CONCENTRACION * TIEMPO
t-student**

Nivel						Cuadrado de las Mo.
0.00,120	A					4.0500000
0.00,96	A					3.9450000
0.15,120		B				3.7950000
0.15,96		B	C			3.7850000
0.00,72		B	C			3.7750000
0.15,72			C	D		3.6600000
0.20,96				D	E	3.5500000
0.20,72				D	E	3.5450000
0.00,24				D	E	3.5400000
0.15,24					E	3.5075000
0.20,24					E	3.4775000
0.20,0					E	3.4275000
0.15,0					E	3.4275000
0.00,0					E	3.4275000
0.20,120					F	3.2225000

**FRACCION * TIEMPO
t-student**

Nivel						Cuadrado de Mo.
3,96	A					3.8216667
3,120	A	B				3.7650000
4,96		B	C			3.6983333
3,72		B	C	D		3.6750000
4,72			C	D		3.6450000
4,120			C	D		3.6133333
4,24				D		3.5883333
4,0					E	3.4750000
3,24					E	3.4283333
3,0					E	3.3800000

Staphylococcus aureus

CONCENTRACION * TIEMPO t -student

Nivel							Cuadrado de las Mo.
0.00,120	A						4.1250000
0.00,96		B					3.9500000
0.00,72		B	C				3.8500000
0.15,72			C	D			3.8075000
0.20,72			C	D			3.7950000
0.00,24			C	D			3.7800000
0.15,96			C	D			3.7625000
0.15,120			C	D			3.7600000
0.20,96				D	E		3.7150000
0.15,24				D	E		3.7125000
0.20,24				D	E		3.7075000
0.15,0					E		3.6325000
0.20,0					E		3.6325000
0.00,0					E		3.6325000
0.20,120						F	1.8825000

FRACCIÓN * TIEMPO t -student

Nivel							Cuadrado de Mo.
3,120	A						4.0150000
3,96	A	B					3.9521667
3,24		B	C				3.8283333
3,0			C				3.7500000
4,96			C				3.6983333
3,72			C				3.6750000
4,72				D	E		3.6450000
4,24					E		3.608833
4,0					E		3.5750000
4,120						F	0.0000000

Escherichia coli.

**CONCENTRACION *TIEMPO
t-student**

Nivel				Cuadrado de las Mo.
0,120	A			4.7725000
0,96	A			4.6675000
0,0	A			4.6300000
0,72	A			4.5575000
0,24	A			4.4775000
0.15,0	A			4.3800000
0.2,0	A			4.3800000
0.2,72	A			4.2200000
0.2,96	A			4.1550000
0.2,120	A			4.1325000
0.2,24	A			4.1250000
0.15,72	A			4.0700000
0.15,24	A			4.0200000
0.15,96		B		3.0550000
0.15,120			C	1.8875000

**FRACCIÓN * TIEMPO
t -student**

Nivel						Cuadrado de Mo.
3,96	A					3.8216667
3,120	A	B				3.7650000
4,96		B	C			3.6983333
3,72		B	C	D		3.6750000
4,72			C	D		3.6450000
4,120			C	D		3.6133333
4,24				D		3.5883333
4,0					E	3.4750000
3,24					E	3.4283333
3,0					E	3.3800000

Bibliografía

Adams M.R. y Moss. M.O. 1997. Microbiología de los Alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, España.

Anónimo¹: Disponible en <http://www.antimicrobianos~mow/sfoodadd.html> **enero 2004 11:00** a.m.

Anonimo² Disponible en <http://www.amicrobiologia.com.ar/antimicrobianos/general.php> octubre 2004 8:30 a.m

Anonimo³ disponible en <http://www.amicrobiologia.com.ar/antimicrobianos/resistencia.php> **enero 2004 7:30**a.m

Anónimo⁴ Disponible en <http://www.contactopyme.gob.mx/guiasempresariales/guia.asp?ins=228&s=1> **22 Febrero** 2005. 8.30 a.m

Anónimo⁵ Disponible en Departament de sanit i segures Socioal .Guia per ala prevencio i el control de infecció Quadersde salud publica www.genecat.es /sanitat

Anónimo⁶ Disponible en <http://www.trabajosconservacion.com/#236/am> **enero 2006 4:50** p.m

Anónimo⁷ Disponible en <http://nutriguia/pollo/>=63. 23 marzo 2005 9 :55 a.m

Anónimo⁸ Disponible en <http://www.una.com.mx/content/indicadores/indi10.htm>

Anónimo⁹ Disponible en http://www.udlap.mx/~tesis/navegacion/carrera_lia.html septiembre 10 del 2004

Campomanes M. J. P. 2003. Evaluación del efecto de mezclas ternarias y cuaternarias de antimicrobianos sobre *Aspergillus parasiticus*. Tesis de Licenciatura en ingeniería de Alimentos. Universidad de Las Américas, Puebla.

<http://140.148.3.250/udla/servlet/mx.udlap.ict.tales.html.Block?Thesis=1111&Type=O>

Catonga Casbis A. Tesis como requisito para optar al Titulo de Licenciatura en Ing. En Ciencia y tecnología de Alimentos. Profesor guía: M. C. María Hernández González, Saltillo, Coahuila, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 2006

CONABIO .2005 (Comisión Nacional de Biodiversidad) Orégano Mexicano: Oro Vegetal. 28 de Enero 2005. Disponible en:
<http://www.conabio.gob.mx/biodiversitas.hym>.

Desroisier, W.N. 1997. Elementos de Tecnología de alimentos. Décima Segunda Edición, Editorial CECOSA México, D.F.

FAO, 2004

http://www.fao.org/controversiaantimicrobianosdocuments/show_cdr.asp?url_file=/docrep/007/j3877s/j3877s08.htm

García Rodríguez JA, García Sánchez E. 1997. Resistencias bacterianas y antibioterapia. En: Eficacia in vivo Eficacia in vitro. Madrid-Barcelona: ed Doyma, S.A

Huerta, C. 2005. Orégano Mexicano: Oro Vegetal. CONABIO. Disponible en:
http://www.conabio.gob.mx/institucion/conabio_espanol/doctos/indice15.html.

Hernández P. L. del C., 2003, Actividad inhibitoria y letal de los extractos de ajo para *Escherichia coli* y *L. Innocua*. Tesis de Licenciatura en ingeniería de alimentos. Universidad de las Américas, Puebla.

I.C.M.S.F. 1996. Microbiología de los Alimentos. Características de los Microorganismos Patógenos. 1era Ed. Editorial Acribia. Zaragoza España.

I.C.M.S.F. 2000. Microbiología de los Alimentos. Su Significado y Métodos de Enumeración. 2da edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España. Pp.3-14.

I.C.M.S.F. 1998. Microbiological Spacificatons of Food Pathogens

Maguregui, O.C.C. Muñoz, V.T. Gastelum, G.G. 2004. Efecto Antimicrobiano de Extractos Orgánicos Obtenidos a Partir de Bagazo de Orégano Mexicano (*Lippia berlandieri*). Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Ciencias Químicas

McGimpsey, J. 1993. Oregano. *Origanum vulgare*. Crop & Food research.
<http://www.crop.cri.nz/psp/broadshe/oregano.htm>

Murray P.M. 1995. Manual of Clinical Microbiology. 6th Edición. American Society for Microbiology.

Morales Ángeles G. Tesis como requisito para optar al Título de Licenciatura en Ing. En Ciencia y tecnología de Alimentos. Profesor guía: M. C.

María Hernández González, Saltillo, Coahuila, México. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 2005.

Organización Mundial de la salud 2000 “surveillance programme for control of Foodborne Infections and intoxications” 7th report. Disponible en <http://www.who.org>.

Rastrelli L, Caceres A, Morales C, De Simone F, Aquino R. 1998. Iridoids from *Lippia gaveolens*. Phytochem.

Rome, 2005. (publicación #4) FAO, Departamento Económico y Social. Diciembre, Disponible en: http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/007/j3877s/j3877s08.htm

Rota, C. 2004. Actividad Antimicrobiana de Aceites Esenciales Obtenidos de Plantas Aromaticas. Dpto. de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Facultad de Veterinaria.

Rodríguez Jerez Juan J. 2003 “los riesgos controlables del pollo” Los precios y la percepción de seguridad son aspectos que mas influyen en la compra.

Silva, V. R. 2003. El Orégano (*Lippia berlandieri* Schauer) como Alternativa de Producción Agrícola Sustentable para las Zonas Áridas y Semiáridas de México. Folleto para Productores. CIRENA. Salta, Chihuahua.

Pascual ME, Slowing K, Carretero E, Sánchez Mata D, Villar A. 2001. Lippia: traditional uses, chemistry and pharmacology: A review. J. Ethnopharmacol.

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_isorefpid=s0004-6222004000100015Ing=es

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_isorefpid=s0004-6222004000100015Ing=es

Putievsky, E. 1996 Universidad de Zaragoza. Cultivation, selection and conservation of orégano species in Israel. Ed. Padulosi.

Santiesteban A. E. 2002. Agentes Antimicrobianos de Alto Espectro a Partir de Agentes Antimicrobianos Sintéticos Naturales. Tesis de Maestría. Universidad de las Américas Puebla.

Wilkins, K. M y Board, R. G. 1989. Natural Antimicrobials. Sitems. En: Mechanisms of action on food Preservation Procedures. Guld. Gw, Ed. Elsevier Science New York

Wilkins MB. 1998. The physiology of plant and development. McGraw-Hill. University of California-Small Farm Center. Culture Information for Oregano.

Zheng, W. Et al. 2002. Journal of Agricultural and Food Chemistry