



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LA ACCIÓN ANTIFÚNGICA DE LOS  
COMPUESTOS FENÓLICOS (CARVACROLY Y TIMOL) EN REEMPLAZO DE  
CONSERVANTES SINTÉTICO “SORBATOS” EN ALIMENTOS

AUTOR

Gabriela Cristina Lascano Vela

AÑO

2020



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA DE LA ACCIÓN ANTIFÚNGICA DE LOS  
COMPUESTOS FENÓLICOS (CARVACROL Y TIMOL) EN REEMPLAZO DE  
CONSERVANTES SINTÉTICO “SORBATOS” EN ALIMENTOS

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos  
establecidos para optar el título de Ingeniera Agroindustrial y de Alimentos

Profesor Guía

Diego Israel Carrillo Ampudia, M.Sc.

Autora

Gabriela Cristina Lascano Vela

Año

2020

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, revisión bibliográfica de la acción antifúngica de los compuestos fenólicos (carvacrol y timol) en reemplazo de conservantes sintético “sorbatos” en alimentos, a través de reuniones periódicas con la estudiante Gabriela Cristina Lascano Vela, en el semestre 202020, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



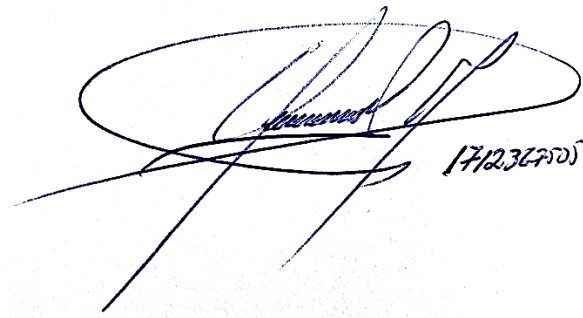
---

Diego Israel Carrillo Ampudia, M.Sc.

C.C.: 171798237-3

## DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, revisión bibliográfica de la acción antifúngica de los compuestos fenólicos (carvacrol y timol) en reemplazo de conservantes sintético “sorbatos” en alimentos, de la estudiante Gabriela Cristina Lascano Vela, en el semestre 202020, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.



---

Pablo Santiago Moncayo Moncayo  
Doctor en Ingeniería Industrial  
C.C.: 171236750-5

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Gabriela', written over a horizontal line.

---

Gabriela Cristina Lascano Vela

C.C.: 172579578-3

## AGRADECIMIENTO

A los ingenieros Diego Carrillo, Pablo Moncayo, Janeth Proaño por su guía, confianza y paciencia durante mi trabajo de titulación. A mis amigos y familiares más cercanos. Y en especial a Sebastián Fierro por haber sido una persona incondicional que me ha incentivado a crecer como persona y profesionalmente, y sobre todo por su valioso apoyo y amor.

## DEDICATORIA

A Dios, por todas las bendiciones que ha derramado en mi vida. A mis abuelitos Enrique Vela y Elsie Villagómez, porque gracias a ellos he logrado culminar esta etapa de mi vida porque gracias a su amor y a su generosidad me he sentido bendecida en todo momento. A mis padres Néstor y Valeria que siempre han sido incondicionales conmigo y me han brindado confianza, consejos que me han hecho ser la persona que soy por siempre darnos a mí y a mis hermanas lo mejor que ellos han podido y con la humildad que les ha caracterizado siempre. A mi abuelita Blanca y a mis hermanas Fernanda y Adriana por ayudarme en todo y en especial a Fernanda que es mi mejor amiga y mi más grande admiración. A todos ellos muchas gracias.

## RESUMEN

La industria de alimentos requiere maximizar el rendimiento de los productos elaborados con respecto a su conservación, para ello la utilización de preservantes sintéticos, es una práctica frecuente utilizada para prolongar la vida en anaquel de los alimentos, conduciendo problemas de salud en los consumidores. En la actualidad, los consumidores buscan soluciones más saludables para su alimentación, anhelando alimentos nutritivos y sanos. Para este propósito, la ingeniería en Alimentos y Agroindustrial se ha orientado al uso de los aceites esenciales, sus propiedades antifúngicas y antibacterianas para disponer de un conservante natural en los alimentos. De esta forma, el presente Trabajo de Titulación se ajusta con esta directriz de investigación, tiene como objetivo general la acción antifúngica de los compuestos fenólicos (carvacrol y timol) para reemplazo de conservantes sintéticos sorbatos en alimentos. A su vez, se plantea como trabajo específico sintetizar los fundamentos teóricos sobre la acción antifúngica del carvacrol y timol, caracterizar la acción potencial antifúngica de estos compuestos fenólicos como posible reemplazo de conservantes sintéticos, establecer los procesos y protocolos como estrategia viable del uso de compuestos fenólicos como conservantes alimenticios porque en la literatura revisada se demuestra que tanto el timol como el carvacrol son efectivos para la preservación de los alimentos, porque el timol es capaz de mitigar la acción fúngica del microorganismo *B. cereus* y *L. monocytogenes* con un MIC de  $0,452 \mu\text{l ml}^{-1}$ , contra el *E. coli* con un MIC de  $0,336 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; el *Staph. aureus* con un MIC de  $0,183 \mu\text{l ml}^{-1}$  y mitigar el *S. typhimurium* con un MIC de  $0,0565 \mu\text{l ml}^{-1}$ . Mientras que el carvacrol mitiga la *B. cereus* en un MIC de  $0,542 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; la *L. monocytogenes* con un MIC de  $2,685 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; la *E. coli* con un MIC de  $2,611 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; la *Staph. aureus* con un MIC de  $0,312 \mu\text{l ml}^{-1}$  y la *S. typhimurium* con un MIC de  $0,224 \mu\text{l ml}^{-1}$ .

### Palabras Clave:

Alimentos, acciones antifúngicas, carvacrol, preservante natural, preservante sintético, timol.



## ABSTRACT

The food industry requires maximizing the performance of processed products with respect to their preservation, for this the use of synthetic preservatives is a frequent practice used to prolong the shelf life of food, leading to health problems for consumers. Today, consumers are looking for healthier food solutions, yearning for nutritious and healthy food. For this purpose, Food and Agroindustrial engineering has focused on the use of essential oils, their antifungal and antibacterial properties to provide a natural preservative in food. In this way, the present Degree Project adjusts with this research guideline, its general objective is the antifungal action of phenolic compounds (carvacrol and thymol) to replace synthetic preservatives sorbates in foods. In turn, it is proposed as a specific work to synthesize the theoretical foundations on the antifungal action of carvacrol and thymol, to characterize the potential antifungal action of these phenolic compounds as possible replacement of synthetic preservatives, to establish the processes and protocols as a viable strategy for the use of compounds phenolic as food preservatives, because the thymol is is capable of mitigating the fungal action of the microorganism *B. cereus* and *L. monocytogenes* with a MIC of  $0,452 \mu\text{l ml}^{-1}$ , against him *E. coli* with a MIC of  $0,336 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; the *Staph. aureus* with a MIC de  $0,183 \mu\text{l ml}^{-1}$  and mitigate the *S. typhimurium* with a MIC of  $0,0565 \mu\text{l ml}^{-1}$ . While carvacrol mitigates the *B. cereus* in a MIC of  $0,542 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; the *L. monocytogenes* with a MIC of  $2,685 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; the *E. coli* with a MIC of  $2,611 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; the *Staph. aureus* with a MIC de  $0,312 \mu\text{l ml}^{-1}$  y la *S. typhimurium* con un MIC de  $0,224 \mu\text{l ml}^{-1}$ .

### Keywords:

Food, antifungal actions, carvacrol, natural preservative, synthetic preservative, thymol.

# ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	3
2.1. Objetivo general .....	3
2.2. Objetivos específicos .....	3
<b>3. MARCO TEÓRICO</b> .....	3
3.1. Generalidades .....	3
3.2. Reseña histórica .....	4
3.3. Aceites Esenciales (AE) .....	5
3.3.1. Aceites esenciales en las plantas .....	6
3.3.1.1 Localización de AE en la planta .....	6
3.3.2. Localización de AE en la planta .....	7
3.3.3. Extracción AE .....	9
3.3.4. Pureza de los AE .....	10
3.3.5. Ventajas y desventajas de los AE .....	11
3.3.6. Precauciones con los AE .....	11
3.3.7. Propiedades físicas de los AE .....	12
3.3.8. Clasificación de los aceites esenciales .....	13
3.3.9. Propiedades químicas de los aceites esenciales .....	14
3.3.9.1 Terpenos .....	14
3.3.10. Propiedades antifúngicas de los aceites esenciales .....	20
3.4. Antifúngicos naturales .....	20

3.4.1. Timol .....	21
3.4.2. Carvacrol .....	22
3.5. Espectro antifúngico del timol y carvacrol .....	22
3.6. Aceites esenciales en alimentos .....	25
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>28</b>
4.1. Materiales .....	28
4.2. Métodos .....	35
4.3. Estadística .....	39
<b>5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>44</b>
<b>6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>52</b>
6.1. Conclusiones .....	52
6.2. Recomendaciones .....	53
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>55</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>66</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales estructuras celulares de los AE .....	6
Tabla 2. Componente de AE con su característica organoléptica .....	8
Tabla 3. Dosificación del timol y carvacrol .....	12
Tabla 4. Monoterpenos de los AE .....	18
Tabla 5. Sesquiterpenos de los AE .....	19
Tabla 6. Composición antifúngica de los AE .....	23
Tabla 7. Términos utilizados en las pruebas de actividad antifúngica y antibacteriana .....	30
Tabla 8. Métodos de prueba utilizados para medir la actividad antibacteriana de las AE y sus componentes .....	32
Tabla 9. Selección de MIC de AE probados in vitro contra patógenos transmitidos por alimentos .....	37
Tabla 10. Selección de MIC de componentes de AE probados in vitro contra patógenos transmitidos por alimentos .....	38
Tabla 11. Descripción de estudios que prueban la actividad antifúngica y antibacteriana de los AE o sus componentes en los alimentos .....	41
Tabla 12. Análisis y discusión uso del carvacrol probados in vitro contra patógenos transmitidos por alimentos .....	44
Tabla 13. Análisis y discusión uso del timol probado in vitro contra patógenos transmitido por alimentos .....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización de los AE en la planta .....	7
Figura 2. Clasificación de los AE .....	14
Figura 3. Estructura de los terpenos .....	15
Figura 4. Caracterización terpenos por unidad de isopreno .....	16
Figura 5. Estructura química de carvacrol y timol .....	24
Figura 6. Métodos de dilución .....	28
Figura 7. Determinación de <i>Staphilococcus aureus</i> en alimento .....	29
Figura 8. Colonias sospechosas vistas por DO .....	33
Figura 9. Colonias de <i>Salmonella</i> spp., en medio SS .....	34
Figura 10. Microscopia electrónica de <i>Salmonella typhimurium</i> .....	36
Figura 11. Microscopia confocal de <i>E. coli</i> .....	39
Figura 12. Presencia de <i>Escherichia coli</i> .....	43

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A: Cepas requeridas de cada microorganismo .....	67
Anexo B: Conservantes sintéticos en alimentos de Ecuador .....	68
Anexo C: Rangos de pH para ciertos alimentos .....	69

## 1. INTRODUCCIÓN

La esencia aceitosa que se extrae de las plantas medicinales o aromáticas presentan un elevado poder antimicrobiano y antifúngica; de esta manera, los aceites esenciales están considerados como conservantes naturales, debido a las propiedades biológicas y químicas que evitan el deterioro de los alimentos, originados por la proliferación de hongos, bacterias o la propia oxidación del ambiente, estas condiciones hacen en esencias como el timol o el carvacrol su aplicación en la industria de alimentos.

Los preservantes naturales derivados de aceites esenciales son muy importantes en la conservación de productos elaborados u orgánicos, debido a que proliferan la idea de una alimentación saludable, con los mismos valores nutricionales, sabor y textura; a diferencia de los conservantes sintéticos que utilizan muchos productos, que son la causa principal de una salud deteriorada en largo o mediano plazo. Los aceites esenciales extraídos de las plantas tienen mayores beneficios para la industria alimentaria porque además de no ser contaminantes para el alimento, prolifera el cuidado del medio ambiente, rentabilidad económica y uso diversificado.

Los malos hábitos alimenticios de los seres humanos, orientados por el sabor, olor o tiempo de duración de los alimentos, ha conducido a las personas a ingerir productos procesados, listos para su consumo como son los snacks y la comida “chatarra”; alimentos que por su composición sintética y nutricional tienden a producir patologías dañinas para la salud, tal es el caso del sobrepeso, la diabetes, la hipertensión o la obesidad. De esta manera, los conservantes sintéticos deben dejar de ser parte de los productos que alimentan a las personas, y atender a las alternativas que ofrecen los aceites naturales.

La ingesta permanente de alimentos procesados, induce una mala calidad de vida, deteriorando la vitalidad y sanidad del ser humano. La comida snacks y los alimentos procesados con compuestos sintéticos, pueden ser apetecibles en el momento, pero no muestran garantías con la dieta equilibrada y la nutrición de

la sociedad, debido a la variedad de químicos y preservantes que contienen para mantener sus propiedades como: sabor, textura y calidad durante prolongados periodos de tiempo.

Por otra parte, el avance de la tecnología en la manufactura de productos procesados, trata de elaborar alimentos con menos presencia de agentes químicos, especialmente conservantes y colorantes. En este sentido, Ardila (2009) asegura que los preservantes naturales se han convertido en una alternativa muy eficaz para mejorar la salud nutricional del consumidor. A razón de que en Ecuador existe un 67% de consumidores, que se orienta por la ingesta de comida rápida (FAO, 2016).

En vista de esta problemática, se identifica la necesidad de sustituir preservantes sintéticos por compuestos de origen natural derivados de los aceites esenciales, tal es el caso del timol o el carvacrol pertenecientes al grupo de los fenólicos. De esta manera, Rodríguez (2011) asevera que, de acuerdo con estudios recientes, se ha podido determinar que los preservantes de origen natural tienen la capacidad de actuar como inhibidores de crecimiento microbiano con acción antifúngica de una manera natural y efectiva.

Los aceites esenciales de origen vegetal con compuestos fenólicos como el carvacrol y timol poseen características antifúngicas y antibacterianas (Albado, 2011). Acevedo (2013) afirma que la manufactura de alimentos procesados ha evidenciado beneficio en emplear los aceites esenciales como antifúngicas naturales por la característica biológica de mitigar la proliferación de agentes microbianos en los alimentos, estrategia que utiliza la planta como mecanismo de defensa, que a su vez, es útil para conservar lo alimentos de patógenos como *Flora natural*, *Salmonella spp.*, *B. cereus.*, *E. coli O157:H7*, y *Aspergillus spp.*; los cuales son causantes de su deterioro.

La composición de los preservantes sintéticos de origen químico, tiene efectos en diversos niveles del cuerpo humano. Como el ejemplo del Butil hidroxitolueno (BTH) es utilizado en diferentes alimentos procesados, los mismos que provocan patologías secundarias en la salud como: asma, insomnio, e hiperactividad



cuando existe un consumo excesivo y prolongado (Delgado, 2015). A partir de esta problemática, surge la iniciativa de reemplazar a los preservantes sintéticos por preservantes de origen natural, teniendo un beneficio importante en la salud y la nutrición de los productos elaborados como los snacks (Acevedo, 2013).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

- Dar a conocer la acción antifúngica de los compuestos fenólicos (carvacrol y timol) para reemplazo de conservantes sintéticos sorbatos.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Identificar la acción potencial antifúngica de los compuestos fenólicos (carvacrol y timol) como posible reemplazo de conservantes sintéticos.
- Recopilar el estado del arte sobre la acción antifúngica de compuestos fenólicos carvacrol y timol.
- Determinar la viabilidad del uso de compuestos fenólicos como conservantes alimenticios.

## **3. MARCO TEÓRICO**

### **3.1. Generalidades**

Para Saucedo (2011) el problema principal del “deterioro de los alimentos se debe a la proliferación de microorganismos tales como (bacterias, hongos, levaduras y mohos)”. Esta afectación a los nutrientes de los alimentos y a su rápido desecho, produce pérdidas económicas muy representativas para las industrias de los productos elaborados y para los consumidores; además, que el alimento deteriorado se convierte en un problema de salud. Bosack (2001) afirma que el “porcentaje de pérdida de alimentos alrededor del mundo oscila en un 20% por la acción de microorganismos”, también por el uso indiscriminado de

componentes químicos, desde su agricultura hasta su producción y almacenamiento.

Por otra parte, la disponibilidad de Aceites Esenciales (AE) que derivan de las plantas, fundamentalmente de las aromáticas y medicinales, poseen propiedades antifúngicas y antibacterianas que mitigan los microorganismos y el deterioro de los alimentos por un determinado tiempo, convirtiéndose en un preservante natural que ayuda a mejorar las condiciones saludables en los productos sean estos procesados o no procesados. La FAO (1998) define a las plantas medicinales y aromáticas como “aquellas que pueden generar por proceso fisicoquímico AE de un olor o sabor específico”. La FAO asegura que el 0,66% de las plantas medicinales, son aromáticas; estima que hay alrededor de 3000 AE en el mundo, que solo el 10% aproximado tienen importancia industrial.

### **3.2. Reseña histórica**

Las plantas medicinales y aromáticas se han cultivado desde que el ser humano empezó la civilización y el uso de la agricultura para producir sus alimentos, se las empleaba en las comidas o para perfumar a los cadáveres o a las propias personas con el uso de sus esencias. Worwood (2012) afirma que los AE fueron conocidos por sus propiedades antisépticas y balsámicas para uso en ceremonias religiosas y perfumes.

Loewenfeld & Back (1980) afirman que la evidencia escrita más antigua está en Grecia, Egipto, Persia, China, India y Arabia, en donde se referían a conocimientos y tradiciones para el cultivo y el uso de plantas y especies. En las ceremonias religiosas eran muy utilizados para la unción, a través de la composición de un bálsamo consistente de AE (Martínez, 2012).

Guenther (2013) afirma que los primeros AE destilados tuvieron un desarrollo en Occidente, ya que existen manuscritos de historiadores griegos y romanos como Dioscórides, Herodoto, Plinio que hablan del uso del aceite de trementina como el primer AE. Para el siglo XIII los AE eran de uso en farmacopeas, pero su uso extensivo fue a mediados del siglo XVI, donde la elaboración y extracción de los

AE era conocido en casi todo el planeta, sobre todo en las farmacias que se elaboraban y comercializaban entre 15 a 20 variedades de AE (Crosthwaite, 1998).

Para culminar el siglo XVIII inició el auge del conocimiento en las propiedades químicas de los AE, debido a que se empezaba a darle diferente uso y modo de extracción. Pero Wallach para el año 1918 fundamentó los principios biológicos y químicos de los terpenos y sus derivaciones. Anterior a la fecha, De la Croix en el año de 1881, ya había realizado el estudio preliminar referente a las particularidades antibacterianas de las fragancias de AE. De esta forma, en el siglo XIX, como también en el siglo XX la aplicación de los AE tuvo mayor importancia en aromatizantes, dejando su principal función en los quehaceres médicos (Guenther, 2013).

### **3.3. Aceites Esenciales (AE)**

Burt (2004) asegura que los AE son sustancias líquidas aromáticas y aceitosas conseguidas de diferentes partes de la planta medicinal o aromática. Están constituidos por la mezcla compleja de una cantidad superior en 100 moléculas para su peso molecular inferior, habitualmente menor a los 500 Da. Corresponden a diversos grupos de compuestos naturales: ésteres, alcanos, aldehídos, alcoholes, ácidos carboxílicos y cetonas.

Gran parte de AE es producto de la extracción de plantas medicinales y aromáticas ubicadas en localidades tropicales y subtropicales del planeta. Son líquidos cristalizados y volátiles, generalmente de menor densidad que el agua y solubles en disolventes orgánicos. Según Usano (2014) los AE son condensados, acopiados y propagados al ecosistema a través de diversas estructuras epidérmicas de las plantas, dependiendo de la morfología del grupo taxonómico, de esta forma, gran parte de las especies almacenan los AE en tricomas glandulares. En el presente estudio se hará énfasis en los aceites carvacrol y timol como compuestos fenólicos y sus propiedades antifúngicas y antibacterianas para utilizarlos en la conservación de los alimentos.

### 3.3.1. Aceites esenciales en las plantas

Olaya (2016) asegura que los AE son una combinación de sustancias odoríferas de gran concentración a manera de gotas microscópicas agrupadas en glándulas, semillas, fibras glandulares o venas de diferentes partes de una planta aromática o medicinal; están en sus hojas, flores, frutas, corteza y raíces. Los AE son la característica física y química que proporciona la identificación de la planta y su familia vegetal. En la tabla 1 se despliegan algunos ejemplos del tipo de estructuras celulares donde se localizan los AE en ciertas familias de la planta aromática.

**Tabla 1.**

*Principales estructuras celulares de los AE*

<b>Estructura Celular</b>	<b>Ejemplos</b>
Pelos glandulares	<i>Labiatae, Verbenaceae, Geraniaceae</i>
Cavidades esquizógena	<i>Myrtaceae, Gramineae, Assteraceae</i>
Canales lisígenos	<i>Rutaceae</i>
Canales resinosos	<i>Coniferae</i>
Canales gomosos	<i>Cistaceae, Burseraceae</i>

Nota: Principales estructuras celulares de los AE adaptado de (De Silva, 2015).

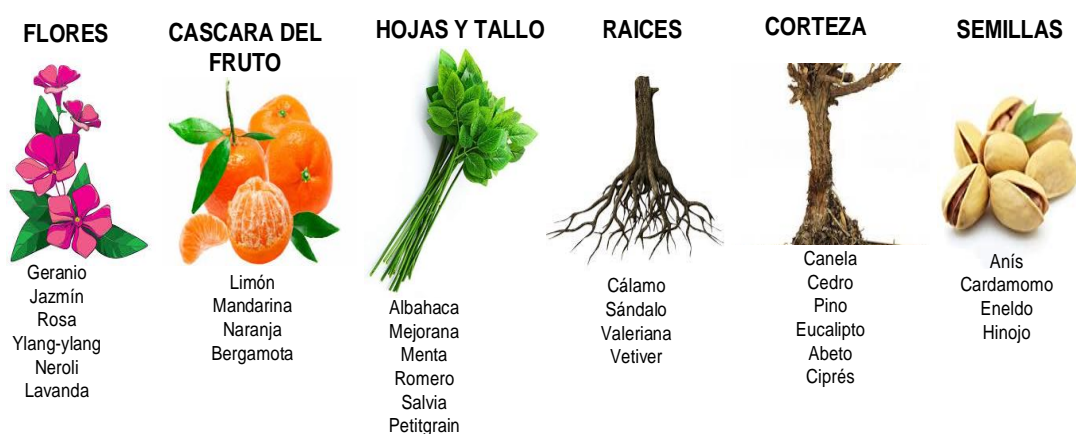
En síntesis, Matheis (2015) asegura que los AE están desarrollados por medio de la acción de enzimas, que resultan principalmente del metabolismo de los ácidos grasos. De esta manera, ciertos AE se localizan como precursores no volátiles, comúnmente glucósidos.

#### 3.3.1.1 Localización de AE en la planta

López (2012) asevera que los AE existen presentes por alrededor de 295 familias de plantas aromáticas y medicinales; de estas, 60 a 80 originan AE, de este grupo 38 crecen en áreas tropicales, 8 en clima subtropical, 17 en clima templado y 24 familias residen en diversos climas. Las plantas cultivadas son las de mayor predominio para la extracción de AE que las plantas silvestres. Entre las plantas

aromáticas y medicinales que contienen AE y que predominan, son las fanerógamas en unas 70 familias entre las que destacan: pináceas, rutáceas, rosáceas, labiadas, mirtáceas, lauráceas y umbelíferas.

Para Jackson (2016) la cantidad y composición del AE es diferente de una especie a otra, a pesar de ser parte de la misma familia. Esto debido al tamaño de la parte de la planta, existen plantas con hojas muy grandes, raíces extensas o tallos muy frondosos. En este sentido, los AE, se pueden localizar en la planta completa o para mayor cantidad, en fragmentos definidos de la misma, como se ilustra en la figura 1.



**Figura 1.** Localización de los AE en la planta. **Fuente:** Adaptado de Jackson (2016)

### 3.3.2. Acción de los aceites esenciales

Gennari (2016) afirma que los AE se absorben en el cuerpo humano de dos formas, por medio de la piel y principalmente por las vías olfativas, llegando a producir en el cerebro diferentes sensaciones y emociones por su fragancia, aroma y sabor. Para Kapoor (2017) debido a que los AE poseen un peso molecular bajo, se penetran por los poros y folículos capilares en la piel. Contrario a productos químicos o drogas sintéticas, los AE no se aglomeran en el cuerpo, se segregan en la respiración, transpiración, las heces y la orina.

Por su parte, Gavina (2016) asegura que los AE tardan de 15 minutos a 12 horas en su absorción completa, y aproximadamente de 3 a 6 horas lograr ser

metabolizadas en un cuerpo sano normal, y de por lo menos 12 a 14 horas para un cuerpo con alguna patología de obesidad, sobrepeso o enfermedad. Los aspectos que modifican la absorción del aceite es la condición y el cuidado de la piel que limitan el proceso de absorción, o de manera opuesta, el agua, el ejercicio provocan un aumento en la velocidad de absorción del AE. Estas propiedades organolépticas de los AE son los que marcan las características de su uso y las aplicaciones de sus propiedades químicas y físicas.

La tabla 2 particulariza el vínculo de principios activos con las características organolépticas de los AE.

**Tabla 2.**

*Componente de AE con su característica organoléptica*

<b>Componente</b>	<b>Procedencia y característica</b>
Anetol	De la familia éter fenólico, dispone de un sabor dulce; se ubica en el anís.
Anisaldehído	Familia aldehído, con un olor herbáceo y sabor dulce; está en el anís.
Bemeol	Familia alcohol; ubicado en el romero, o la valeriana.
Carvacrol	Familia fenol, con olor fijador; está en plantas como el tomillo o el serpol, en el lúpulo o ajedrea.
D-carvona	Familia cetona, de un sabor suave y olor herbáceo; está en plantas como el eneldo.
Citral- Citronelal l-carvona	Familia cetonas, con olor mentolado y sabor dulce; está la menta crespa.
Citronelol	Familia aldehído, con olor alimonado y sabor fresco, está en la naranja.
Geraniol	Familia éter fenólico, con olor cálido y ardiente; está en el clavo y la canela.
Linalol	Familia terpenos, con olor refrescante, está en la naranja, alcaravea, menta y alcanfor.

Mentol	Familia terpenos, con olor refrescante, está en la bergamota, neroli, naranja y alcanfor.
Pineno	Familia alcohol, con olor resfrecante, floral, y maderado, está en la bergamota.
Terpineol Timol	Familia alcohol, con olor herbáceo refrescante y sabor dulce-agrio; está en el tomillo y la menta.
Vainillina	De la familia alcohol, dispone de un olor refrescante y sabor dulce; se localiza en plantas como el tomillo, la trementina e hinojo. La vainilla quizá es uno de los AE más utilizados en los productos elaborados.

Nota: Principios activos con las características organolépticas en AE adaptado de Gavina (2016).

### 3.3.3. Extracción AE

La velocidad de expansión depende de cada aceite en tejidos vegetales a la parte descubierta de la planta de donde se puede extraer, afecta el procedimiento de extracción de AE.

Existen muchos métodos de extracción de AE. Para Van Griensven (2016) el método más importante de todos es la destilación hidro y la destilación al vapor. Otros procedimientos son microondas, destilación a baja y alta presión y uso de dióxido de carbono líquido. El método de destilación al vapor se emplea principalmente para la extracción de AE utilizados para alimentos y aplicaciones farmacológicas. Como los AE están llenos de propiedades antibacterianas y antifúngicas, su importancia y uso en el sector alimentario y farmacéutico aumenta para superar los problemas causados por los productos químicos manteniendo la simetría biológica.

Por su parte Donelian (2019) los AE utilizados por las industrias de perfumes se extraen utilizando solventes lipofílicos o procedimiento de dióxido de carbono. El aceite varía en composición, cantidad y calidad dependiendo de factores como la edad, la parte de la planta utilizada en la etapa del ciclo vegetativo y el clima. Para Hussain (2018) la composición química del aceite extraído se estudia mediante técnicas como la espectroscopía IR, la cromatografía de gases, la

espectroscopía UV y la espectroscopía de RMN. Existe una gran necesidad de análisis eficiente de los AE, ya que la relevancia de los AE en alimentos y bebidas aumenta con el pasar de los días.

En complemento Gulluce (2017) para la caracterización de AE se emplea el método GC (cromatografía de gases) y para la identificación de componentes químicos de los aceites esenciales GC-MS (espectrometría y cromatografía de masas y gases respectivamente). Van Griensven (2016) asegura que los métodos de procesamiento de almacenamiento y manipulación de los AE afectan en gran medida su calidad y rendimiento. La química y la composición de los componentes de los AE se ven significativamente afectados por las circunstancias genéticas, ambientales, fisiológicas y de procesamiento. En la literatura se menciona que incluso el efecto del medio ambiente y las razones de madurez también afectan la calidad, cantidad y composición de los AE.

#### **3.3.4. Pureza de los AE**

Para Gessner (2012) la prueba principal que determina si un aceite es de alta pureza se realiza al “poner una gota del aceite en un trozo de papel, y permitir que se evapore por algunos minutos”; se debe revisar que el AE se evapore de forma rápida por la propiedad volátil, es importante que no aparezca un anillo aceitoso en el papel, a pesar de existir excepciones en los AE que tienen consistencia resinosa como las oleorresinas, la mirra o el pachulí.

Gómez (2017) asegura que el factor costo también es incidente en la pureza del AE sea este sintético o natural. Existen AE etiquetados “perfume”, “fragancia” o “potpurri”, éstos son de composición sintética, así disponga de una etiqueta de AE. Pero, existe la Cromatografía de Gas que utiliza un equipo de cómputo para procesar la medición química del AE, es poco utilizado por su costo.

Otra manera de detectar de manera casera la pureza de un AE, según Garay (2017) es el olor a alcohol en la botella, debido a que el AE se ha disuelto. Un almacenamiento óptimo de los AE permite que se conserven en un tiempo aproximado de 2 a 5 años, por esta razón es preciso re-ensarlo si se desea



utilizarlo nuevamente, porque el oxígeno en la parte del frasco puede favorecer su caducidad; sobre todo los AE derivados de frutas cítricas. También, en la mezcla del AE con uno de tipo vegetal que persevera las condiciones del vegetal antes que del AE.

### **3.3.5. Ventajas y desventajas de los AE**

Para Matheis (2015) los beneficios al utilizar los AE de alta pureza están en que se adquiere mejor higiene, un mayor desempeño de calidad y sabor para la materia prima, no producen coloración al producto, son exentos de taninos y enzimas; además muestran mayor preservación dependiendo de su almacenamiento. Los inconvenientes de los AE está en que son propensos a su deterioro con facilidad, su concentración limita una fácil dosificación, no existe difusión rápida para productos secos, tienden a la oxidación; para esto es importante conservarlos en frascos azul cobalto, ámbar u otro cristal de color que deje pasar la luz de forma limitada; es necesario evitar tapones plásticos o de goma para una mejor preservación.

### **3.3.6. Precauciones con los AE**

En las precauciones Morris (2018) afirma que los AE son sustancias concentradas, por ejemplo una sola gota de AE puede disponer de 75 a 100 veces la concentración del aceite que en la propia planta. Ésta es una razón importante para emplear los AE con precaución y conocimiento, no se pueden ingerir o aplicar directamente. Se deben utilizar AE para diluirlos en otros tomados como base, en cantidades aproximadas del 1 al 10% dependiendo de la utilidad específica. Stambuk (2016) asevera existen AE que son peligrosos usarlos por ser cancerígenos, tóxicos o irritantes superficiales, también pueden ser abortivos o perjudiciales para los infantes.

Stashenko (2014) asegura los AE logran irritación en la piel, alergia o inflamación puede ser el anís, hinojo, albahaca, hinojo, menta, romero, citronela, alcanfor, entre otros. Existen AE que provocan quemaduras, por lo tanto no es aconsejable su uso en personas algún tipo de cáncer en la piel, pecas oscuras

o lunares grandes, son las que dominan porcentajes elevados de fenoles como el clavo, comino, jengibre, tomillo, mandarina, entre otros. La tabla 3 muestra la dosificación del timol, carvacrol y otros AE sin ser perjudiciales.

**Tabla 3.**

*Dosificación del timol y carvacrol*

Componente	Especia	Dosis	Autor
Timol	Tomillo	100 mg/Kg	Stambuk (2016)
Carvacrol	Orégano	75mg/kg	Kerrola (2013)

Por otra parte, Kerrola (2013) asegura que hay efectos alucinógenos y hepatotóxicos de los AE con esencias de tuyonas, como el ajeno y diversas salvas; o cancerígenos por el safrol y asaron del sasafrás y cálamo respectivamente. Kapoor (2017) asevera que hay AE prohibidos de usar en el embarazo, principalmente los que contienen pulegona como el anís, hinojo, aceite de maíz, orégano, entre otros. Es mejor impedir el uso AE en altas concentraciones durante el primer trimestre, sobre todo en historial de aborto.

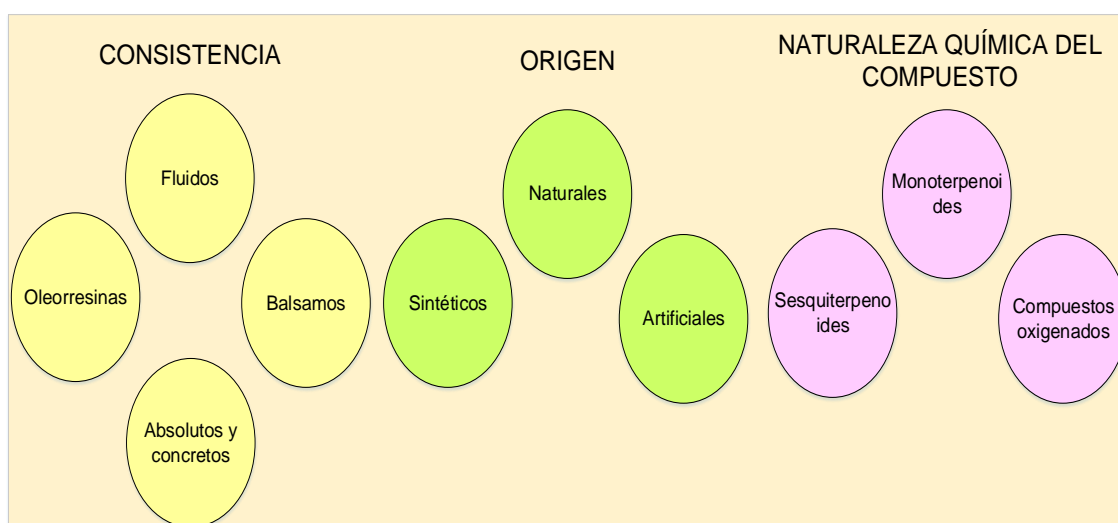
### **3.3.7. Propiedades físicas de los AE**

Sánchez (2015) asegura que las relevantes propiedades físicas de AE están en el olor concentrado, su sabor amargo o dulce, su fragancia aromática, o percepción de fármaco, poseen una densidad menor que el agua, a excepción del sasafrás, canela y clavo de olor que posee densidad más elevada. Saloma (2017) afirma que los AE tienen un peso aproximado de 0,8 a 2,0 mg a temperaturas de 15 °C; con una ebullición desde los 150 hasta los 300 °C; además su índice refractario va desde los 1,45 hasta 1,5. Los AE son volátiles, es decir, atraviesan del líquido a gas simplemente por medio del ambiente, como también una temperatura un poco más elevada.

También, los AE son sustancias solubles para con los solventes de forma orgánica, e insolubles al combinarse con el agua, pero siempre le transfieren su fragancia. Morris (2018) asegura que los AE son habitualmente destilables por medio de arrastre a través del vapor de agua, disponen de una apariencia oleosa, no muy aceitosos, presentan un aspecto semejante al agua. De esta forma, el quebranto de las glándulas en los AE en la presencia del sol, expide esta fragancia volátil, debido a este principio son más perceptibles en verano que en invierno.

### 3.3.8. Clasificación de los aceites esenciales

Los AE disponen de una clasificación variada según sus propiedades físicas y químicas de los componentes que predominan, además de su consistencia y origen. La figura 2 ilustra la clasificación de los AE por sus diferentes condiciones físicas y químicas.



**Figura 2.** Clasificación de los AE. **Fuente:** Garay (2017).

En el sentido de la consistencia y la densidad de los AE, se dividen como oleorresinas, fluidos y bálsamos. Los AE fluidos están catalogados como líquidos volátiles sobre una temperatura ambiental, mientras que los AE bálsamos disponen una consistencia y densidad de mayor espesor, de esta manera tienen una volatilidad escasa, además están proclives a la polimerización (Garay, 2017). Por su parte, los AE oleorresinas están considerados en los “extractos

que tiene evaporado su disolvente empleado en la extracción, con apariencia de aceite volátil y resinoso”, por ejemplo el clavo o el pimentón.

Martínez (2001) asegura que debido al origen en las plantas de extracción, los AE se dividen en sintéticos, artificiales, o también los naturales. En este propósito, los naturales son muy costosos, por ser extraídos directamente de la planta aromática o medicinal, sin sufrir alguna modificación química o física, lo que le da un alto rendimiento.

Los artificiales son el resultado del proceso de enriquecimiento y complemento de la propia naturaleza, con otra o varios de otras esencias de aceite; un espécimen podría ser la esencia de rosa enriquecida junto a las propiedades linalol. Al contrario, los sintéticos son derivados en la combinación de componentes por medio de protocolos de tendencia química para su síntesis, de esta forma tienen una tendencia económica favorable y muy utilizados a manera de saborizantes y aromatizantes (Garay, 2017).

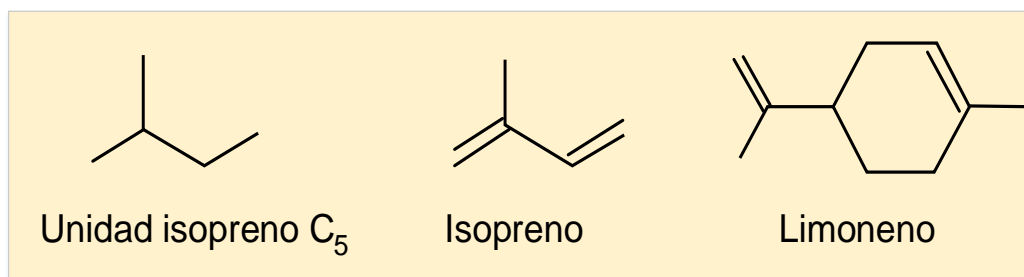
### **3.3.9. Propiedades químicas de los aceites esenciales**

Pavela (2015) asegura que los AE se caracterizan por ser composiciones naturales de excesiva complejidad, porque consiguen estar constituidos entre 20 hasta 60 elementos en diversas densidades acumuladas. Se identifican concentraciones de 20 a 70% de dos a tres componentes predominantes. De esta manera, los componentes de predominio determinan las propiedades biológicas del AE. En estos grupos predominantes se ubican los terpenos, así también los terpenoides, además de los AE aromáticos, con la característica de elevada volatilidad y bajo peso molecular (Bakkali, 2008).

#### **3.3.9.1 Terpenos**

Burt (2004) afirma que los AE del grupo de los terpenos tienen la capacidad de ser lípidos que debido a su constitución química son insaponificables y están estructurados por dos o mucho más moléculas de isopreno conocidas como (2-metil-1, 3-butadieno) con linealidad o propiedad cíclica en la molécula. Los terpenoides pertenecen a este grupo, que se definen como terpenos con la

capacidad de modificación en sus enzimas o convergencia enzimática, que incita la adherencia con la molécula en los átomos del oxígeno y la reagrupación de metilo. La figura 3 ilustra la estructura molecular de los terpenos.



**Figura 3.** Estructura de los terpenos. **Fuente:** Burt (2004).

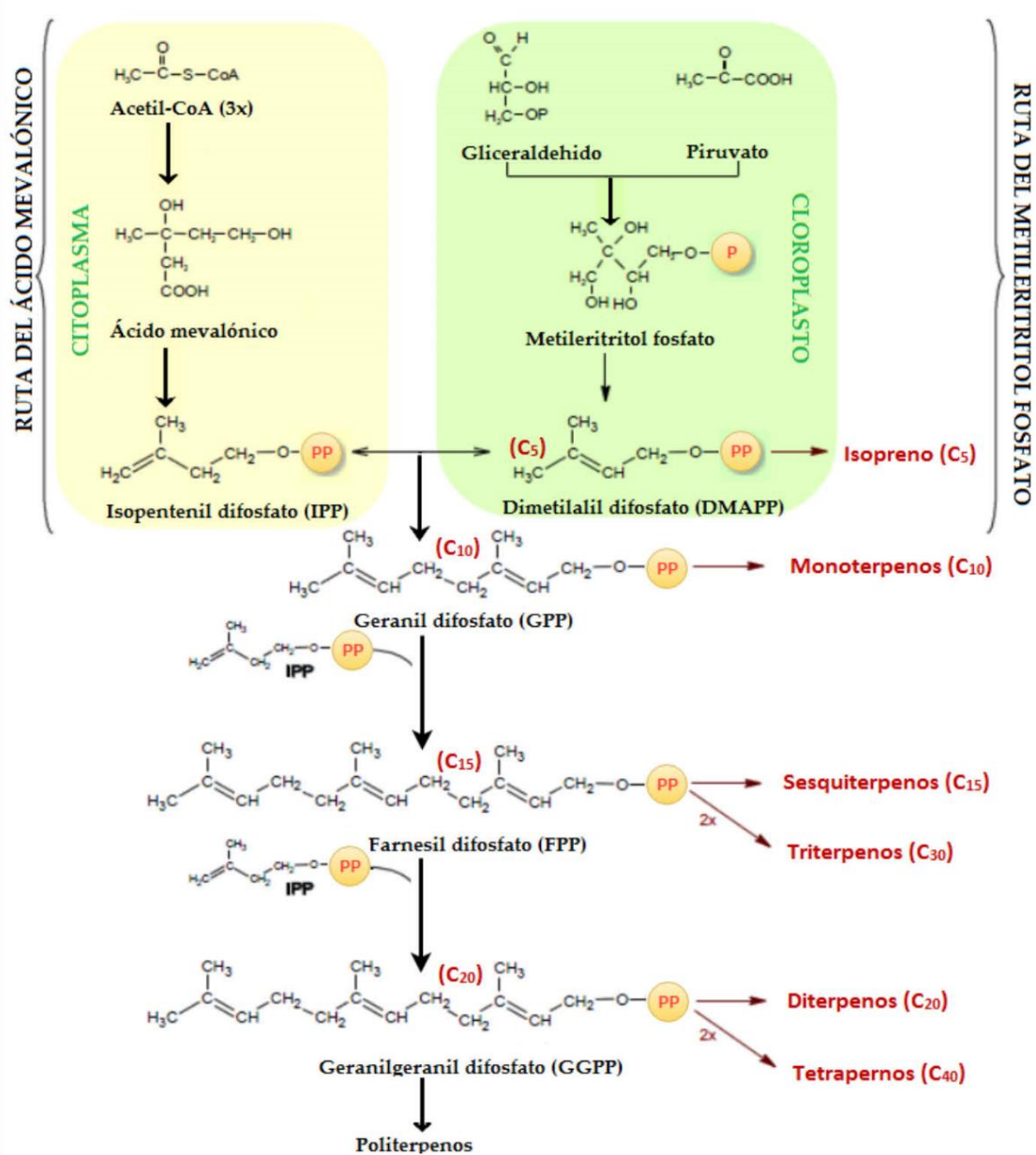
Para Azcon & Talón (2008) los terpenos están considerados como los denominados metabolitos de propiedad secundaria y se obtienen de la ruta de característica MEP (metileritritol fosfato) o también con la ruta de característica MEV (mevalonato). De esta manera, con la trayectoria MEV está establecida con reconocimiento del citosol, originando isoprenoides (esteroles, brasinosteroides, citoquinas y ubiquinona), por el contrario la trayectoria MEP origina la síntesis que caracteriza a los monoterpenos ( $C_{10}$ ), junto a los diterpenos ( $C_{20}$ ), ácido abscísico, carotenoides, tocoferoles, plastoquinona, hormonas giberelinas y la cadena lateral de clorofilas; produciéndose en los plastos.

Granel & Rambla (2013) aseguran que el proceso que da inicio a la biosíntesis de estas composiciones está en la condensación del elemento isopentil pirofosfato (IPP  $C_5$ ) junto con el correcto isómero, también se ubica la condensación del dimetil-alil pirofosfato (DMAPP). Por otra parte, en la trayectoria MEP las unidades de isopreno están conformadas por medio de piruvato junto con el gliceraldehido-3-fosfato (GA-3P), mientras que en la ruta MEV se originan por el acetil-CoA.

En este sentido, el DMAPP, como también el IPP van empleados a través de prenil transferasas consiguiendo elaborar precursores de composición geranil con difosfato (GPP) que es el precursor imprescindible para monoterpenos; también la composición farnesil junto a difosfato (FPP) que es el precursor imprescindible en sesquiterpenos; también los compuestos geranil combinados

de geranil con difosfato (GGPP) que es el compuesto precursor indispensable en tetraterpenos y diterpenos. Para el trabajo de los diversos precursores forman parte varias enzimas, conocidas por sus propiedades químicas con el nombre de terpeno sintasas (TPS), que son producidos por diferentes clases de terpenoides en las plantas (Granel, Rambla, 2013).

La figura 4 muestra la caracterización de los terpenos y sus tipos por unidad de isopreno contenida.



**Figura 4.** Caracterización terpenos por unidad de isopreno. **Fuente:** Ávalos & Pérez (2009).

Ávalos & Pérez (2009) aseveran que la ruta biosintética origina metabolitos primarios, así también metabolitos secundarios indispensables para la supervivencia y crecimiento de las plantas aromáticas y medicinales. En el grupo de los metabolitos primarios se ubican los esteroides (colesterol, ergosterol y sitosterol), carotenoides (carotenos y xantofilas), hormonas (citoquinas, ácido abscísico y giberelinas), y las ubiquinonas. En la actualidad, se calcula unos 3000 compuestos agrupados en los terpenos, aproximadamente 300 propician utilidad en la manufactura cosmética, alimenticia, farmacéutica, como también la sanitaria.

Por su parte, Azimova (2012) asevera que los elementos principales para AE están caracterizados en los monoterpenos ( $C_{10}$ ), que son a su vez el 90% de la totalidad de componentes; son cuantiosas en grupos de plantas de característica angiosperma con tipología dicotiledónea como *Lamiaceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Piperaceae*, *Lauraceae*, *Asteraceae*, y *Apiaceae*. De forma general, los monoterpenos regulares, están producidos a través de fusión “cola-cabeza” para únicamente ambas unidades del elemento isopreno; y monoterpenos irregulares por la fusión “cabeza-mitad”, en la unidad inicial en el elemento isopreno que se incorpora al carbono de la segunda posición o la tercera 2 o 3 de la segunda.

Según la característica, los monoterpenos tienden a clasificarse según el número de ciclos de los que se componen: bicíclicos, acíclicos y monocíclicos (Croteau, 2000).

En complemento, Yufera (2009) afirma que los AE sesquiterpenos ( $C_{15}$ ) disponen de una familia extensa de los denominados terpenoides conformados por 3 moléculas de IPP, que muestran una cantidad mayor a 200 estructuras cíclicas variadas. La propiedad cíclica del FPP sucede con similar mecanismo con los compuestos del GPP, de esta forma algunos sesquiterpenos tienen la capacidad de originar una cantidad mayor de 25 combinaciones. Por otro lado, los 5 carbonos y enlace doble adicional logran un incremento en la elasticidad que muestra la cadena, para la composición en gran cantidad de estructuras, gran

parte de estos sesquiterpenos intermedian como mecanismo de resguardo para la planta, con similares funciones de los monoterpenos.

La tabla 4 muestra los monoterpenos en los AE, tanto en los monoterpenos regulares como en los monoterpenos irregulares.

**Tabla 4.**

*Monoterpenos de los AE*

Componente	Especia
Monoterpenos regulares	<p><b>Alcoholes:</b>            A: nerol, citronelol, linalol, geraniol, lavandulol.            M*: carveol y <math>\alpha</math>-terpineol            B**: isopinocamfenol, borneol, crisantenol y fenchol</p>
	<p><b>Cetonas:</b>            A: tegetona            M*: piperitona, carvona, mentonas y pulegona.            B**: pinocarvona, pinocamfona, fenchona, alcanfor, ombelulona y tujona.</p>
	<p><b>Carbuos:</b>            A: ocimeno, mirceno            M*: terpinenos, felandreno, <i>p</i>-cimeno            B**: sabineno, camfeno, 3-careno, pinenos</p>
	<p><b>Éteres:</b>            A: mentofurano, eucaliptol</p>
	<p><b>Esteres:</b>            A: citronelilo, propionato, linalil acetato            M*: <math>\alpha</math>-terpinil acetato, mentol            B**: acetato de isobornilo</p>
	<p><b>Fenoles:</b>            Carvacrol y timol</p>



Monoterpenos irregulares	A: ácido pirétrico, ácido crisantémico M*: karahanaenona, ácido picrocrocínico
A: Acíclicos	
M*: Monocíclicos	
B**: Bicíclicos	

Nota: Monoterpenos de los AE adaptado de Yúfera (2009).

Al disponer de una unidad adicional del componente isopreno superior a los monoterpenos, de esta forma los sesquiterpenos tiene la característica de plasticidad para su composición, lo que refleja como una propiedad física de variabilidad funcional y estructural. La tabla 5 muestra los sesquiterpenos en los AE.

### **Tabla 5.**

#### *Sesquiterpenos de los AE*

Componente	Especia
Sesquiterpenos	Alcoholes:
	Acíclicos: nerolidol y farnesol
	Cetonas:
	Monocíclicos: turmerona y germacrona.
	Bicíclicos: $\beta$ -vetivona, nootkatona
	Carburos:
	Monocíclicos: $\beta$ -elemento, bisaboleno
	Bicíclicos: $\beta$ -cariofeleno, azuleno, $\beta$ -selineno.
	Esteres:
	Bicíclicos: acetato de cedrilo

Nota: Monoterpenos de los AE adaptado de Yúfera (2009).

Yufera (2009) asevera que los diterpenos ( $C_{20}$ ) pertenecen a la familia de los terpenoides de los AE, se refiere a compuestos que disponen de 20 átomos del elemento carbono (4 unidades IPP), a partir de esta propiedad el peso molecular tiene una cantidad superior a los sesquiterpenos y monoterpenos, lógicamente

con menor volatilidad. En el mismo sentido, Pizarro & Stange (2010) aseguran que los tetraterpenos ( $C_{40}$ ) son el compuesto principal que contiene los animales, como también los vegetales, debido a que este grupo químico está conformado por carotenoides, originados por el hidrocarburo altamente insaturado, denominado caroteno; los mismos que están conformados por la fusión “cola-cola” a través de dos moléculas GGPP.

Las composición descritas para los Sesquiterpenos, únicamente las plantas pueden sintetizarlos, ciertos hongos, algas y bacterias.

### **3.3.10. Propiedades antifúngicas de los aceites esenciales**

Burt (2004) asevera que son muy bien conocidas desde décadas anteriores las propiedades antimicrobianas de la mayoría de AE. En este sentido, Blázquez (2014) asegura que los AE también tienen otras propiedades biológicas pertinentes a la mitigación de bacterias, hongos y microbios; como propiedades: insecticidas, antivíricas, herbicidas o antifúngicas. El presente trabajo, hace referencia a estas últimas y las profundiza en el carvacrol y timol para estimarlos como preservantes naturales.

Es cierto que la totalidad de AE tienen las propiedades biológicas antifúngicas, pero no todos los AE pueden usarse para composición en los alimentos, como se ha mencionado en epígrafes anteriores, ya que muchos AE son irritantes, nocivos o no tan beneficiosos para la salud, a diferencia del carvacrol y timol que ya se utilizan con propósito en la ingeniería de alimentos.

### **3.4. Antifúngicos naturales**

La tarea primordial en la elaboración de los productos comestibles del tipo industrial, es tener la capacidad de que el producto tenga una vida útil mayor, o que pueda caducarse en un periodo de tiempo extenso, porque esta premisa permite que el producto comestible sea almacenado en la industria, sin tener pérdidas económicas y que pueda mantener sus propiedades de textura, fresca, sabor, color, aroma, entre otras.

Pero de estas propiedades de los alimentos, quizá las más importantes, sean el sabor y la frescura ya que de ellas depende que el producto tenga mayor demanda en el mercado; es así que tanto el área agroindustrial, o la ingeniería en alimentos han impulsado el uso de los AE para la conservación de alimentos y la preservación de sus cualidades de sabor y frescura; obteniendo a su vez productos seguros y nutricionales en toda la logística de almacenamiento y consumo.

Los AE con capacidades antifúngicas son todas aquellas esencias que por sus propiedades químicas y condiciones biológicas pueden impedir el desarrollo de bacterias y hongos en los alimentos, los mismos que son los causantes principales de su deterioro, al ser de origen natural estos AE alteran la estructura de la célula fúngica cohibiendo su supervivencia (Sánchez, 2015).

En otras palabras, los AE antifúngicas utilizan el modo de defensa de las plantas para evitar su corrosión a causa de elementos microbianos en la constitución de los alimentos, elaborando alimentos sanos, frescos, de buen sabor y con las propiedades nutricionales por un tiempo prolongado igual o mayor a los conservantes sintéticos. El timol y carvacrol son antifúngicas naturales que están siendo muy explotados en la industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, entre otras, debido a que se encuentran en plantas aromáticas muy utilizadas en la medicina familiar.

#### **3.4.1. Timol**

El timol es compuesto mayoritario del aceite esencial de *L. graveolens*, es un sólido cristalino, de olor pungente, que pertenece a los metabolitos secundarios vegetales de tipo fenilpropanoide. Forma sales al disolverse en bases (Svicery, 2017). La composición de timol como elemento fenólico, propicia la condición antifúngica de la planta aromática conocida como orégano (*Lippia graveolens*), que lo contiene en sus hojas y tallo principalmente. Su presencia es mayoritaria en extractos y aceite esencia de *L. graveolens*.

Y dependiendo de factores abióticos y bióticos se pueden formar quimiotipos de

timol. Reportándose quimiotipos de Timol en *Origanum vulgare* de Grecia, Lituania e Italia y, en algunas plantas del género *Lippia*, como *L. sidoides*, *L. graveolens*, *L. origanoides*, *L. alba*, *L. microphilla* (Ruiz, 2017). Tanto el timol como el carvacrol disponen de niveles elevados para contrarrestar los microorganismos denominados Gran Negativos, a excepción del microorganismo *P. aeruginosa*, para el cual el Timol es mayormente destructivo y beneficioso para la conservación de alimentos (Prestes, 2018).

### **3.4.2. Carvacrol**

El AE fenólico denominado carvacrol cuya composición es (2-metil-5-(1-metil)-fenol) constituye un elemento importante del AE de orégano y tomillo (Worwood, 2012), al igual es un compuesto mayoritario junto con el timol, los cuales pueden variar en su composición por factores geográficos y estación de colecta. Es reconocido como un aditivo alimenticio seguro, se utiliza como agente aromatizante en productos horneados, dulces, bebidas, goma de mascar. El carvacrol presenta actividad antimicrobiana, puede actuar contra muchas bacterias patógenas y hongos; por lo cual puede considerarse como una alternativa en su utilización como conservador de alimentos.

También se ha demostrado la desactivación de microorganismos en biopelículas sobre superficies de acero inoxidable. Burt (2004) describe su mecanismo de acción durante su actividad antimicrobiana, el cual se debe a su marcado carácter hidrofóbico, por lo cual se acumula en la membrana plasmática de la bacteria, lo que al igual que el timol afecta a su integridad y origina una disminución del potencial de membrana. Actúa como intercambiador de protones, con lo que reduce la pendiente de la humedad (pH) por medio de su membrana plasmática.

### **3.5. Espectro antifúngico del timol y carvacrol**

Cutter (2010) afirma que los agentes antifúngicos derivados de plantas aromáticas y plantas medicinales pueden ser alicina, isotiocianato, fitoantitoxina, pigmentos vegetales y compuestos fenólicos de AE. La alicina es un antibiótico

de amplio espectro, el precursor de la alicina, que se originó cuando se destruyeron las plantas o los tejidos del bulbo. El isotiocianato se almacena en las células vacías de las plantas y se libera cuando se bloquea el tejido. La fitotoxina es un agente antimicrobiano de amplio espectro y bajo peso molecular, un compuesto sintético del huésped producido cuando las plantas se lesionan.

Por su parte, Burt (2004) estudió el AE y sus propiedades antifúngicas de varios alimentos, y obtuvo las siguientes clasificaciones de AE con los efectos bactericidas más bajos y más altos: salvia, clavo, romero, menta, Canela, cilantro, clavo, orégano. Además, los componentes de AE se clasifican según sus efectos antifúngicos: geraniol, citral, cinamaldehído, albahaca, metilchaviol, eugenol, carvacrol, ácido cinámico y timol. La Tabla 6 muestra la composición de AE con timol y carvacrol.

**Tabla 6.**

*Composición antifúngica de los AE*

AE	Nombre latino de la fuente vegetal	Componente principal	% Aproximado de composición
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	<i>p</i> -cimeno	52%
		$\gamma$ -terpeno	2-52%
		Timol	64%
		Carvacrol	80%
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>p</i> -cimeno	11-55%
		$\gamma$ -terpeno	3-32%
		Timol	11-65%
		Carvacrol	3-12%

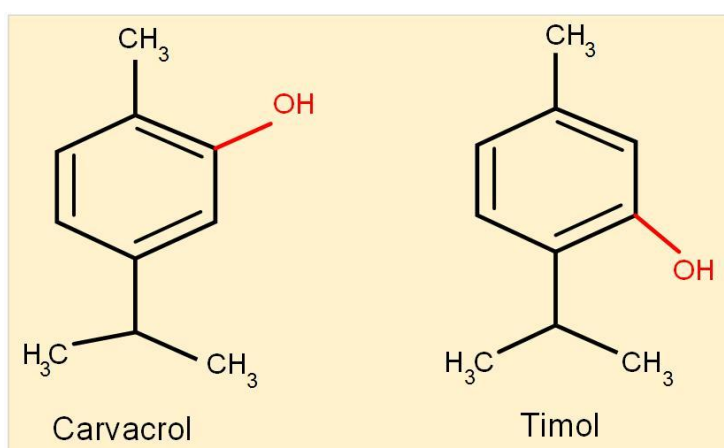
Nota: Composición antifúngica de los AE adaptado de Burt (2004).

También, Moyler (2014) asevera que varios factores afectan la actividad antibacteriana de los fenoles vegetales, como el origen geográfico, la composición química y la diversificación entre los cultivos; además, también

pueden inferir las características de los microorganismos objetivo, como las cepas, el género, tipo de especie y etapa de crecimiento (Naidu, 2010).

Según Laurin y Stupar (2016), el carvacrol y el timol son monoterpenos fenoles heterogéneos. Además, el carvacrol se encuentra principalmente en el orégano (60% a 72%) y el tomillo (47%). Burdock (2010) afirma que el agente antifúngico y antibacteriano tiene su aprobación en la entidad FDA bajo las regulaciones GRAS (Seguridad generalmente reconocida), y sus regulaciones pertenecen al Capítulo 21 Parte 172 del Código de Regulaciones Federales: Aditivos Alimentarios Se permite agregarlo directamente a los alimentos para consumo humano”.

Además, Lambert (2001) señaló que el contenido máximo de carvacrol que se puede agregar a ciertos alimentos horneados (15,75 ppm), goma de mascar (8,42 ppm), condimentos (18 ppm). Sin embargo, Ultee (1999) asegura que el uso de este compuesto fenólico como conservante en los alimentos a veces está restringido debido a consideraciones de sabor. En este sentido, Lambert (2001) afirmó que es necesario encontrar una concentración inhibitoria mínima (MIC) precisa y ser eficaz en diferentes sistemas alimentarios sin afectar los aspectos sensoriales. La Figura 5 muestra las estructuras químicas antifúngicas del timol y el carvacrol.



**Figura 5.** Estructura química de carvacrol y timol. **Fuente:** Burdock (2010).

Para Chen (2014) estos dos compuestos son monoterpenos fenoles e isómeros; además, se ha determinado que su solubilidad en agua es de 1.25 g/L a 20 °C.

En este sentido, Arfa (2016) comparó las actividades antimicrobianas y antifúngicas de cinco compuestos AE diferentes (mentol, eugenol, carvacrol, éster metílico de carvacrol y acetato de vinilo), y concluyó que la estructura química del carvacrol está sesgada hacia el hidroxilo, lo que hace que el carvacrol sea más efectivo que otros compuestos.

Estos resultados son comparables a los realizados por Ultee (2002) al estudiar el espectro antifúngica de carvacrol, timol y mentol contra *Bacillus cereus*. La actividad de timol (que tiene un grupo hidroxilo en la posición meta) es efectiva a una concentración mínima de 0,75 mM, similar al carvacrol. Por otro lado, el mentol sin hidroximetilo es aproximadamente 10 veces menos potente que el carvacrol. Sin embargo, Kim (2015), garantiza que cuando se prueba el carvacrol en muestras de peces, la actividad antifúngica es baja debido a la interacción con la matriz alimentaria.

Didry (2014) aseguró que cuando la combinación de carvacrol y eugenol y eugenol y timol resultara en una concentración inhibitoria fraccional (FIC) entre 0,5 y 0,5, se observó que la resistencia al *Streptococcus* y a las cepas bacterianas orales de *Prevotella* Sinergia parcial 0,75. La clasificación FIC se divide en las siguientes partes:  $FIC \leq 0,6$  (coordinación completa),  $0,6 < FIC \leq 0,76$  (coordinación parcial),  $0,76 < FIC \leq 1,99$  (sin efecto) y  $FIC > 1,99$  (confrontación). En contraste, Ultee (2000) señaló que los efectos sinérgicos del carvacrol y el paracimeno (0,30 mg/g y 0,27 mg/g, respectivamente) en *Bacillus cereus* se redujeron después de agregar sal a las muestras de arroz. (1,25 gramos de sal/litro de arroz).

### **3.6. Aceites esenciales en alimentos**

Friedly (2009) asegura que múltiples factores (como grasas, proteínas, actividad del agua, pH y contenido de enzimas) en la matriz alimentaria pueden reducir la efectividad de la AE. Un valor de pH bajo puede mejorar la estabilidad y la solubilidad de AE, por lo que puede mejorar la actividad antifúngica y antibacteriana de AE. Todos los demás factores que aumentan el potencial antifúngico y antibacteriano de AE son el aumento del contenido de sal y la

disminución de la temperatura de almacenamiento; además, la concentración también afecta la actividad, y el fuerte sabor y olor del AE limitan su uso como conservante de alimentos, mejorando así la comida. La seguridad y la vida útil.

Dado estas razones, la dosis inhibitoria mínima (MIC) se usa generalmente en lugar de la dosis bactericida y la dosis antifúngica. Según la investigación de Firouzi (2007), el contenido de orégano y nuez moscada en los alimentos debe aumentarse en un 1-3%, que es más alto que el nivel sensorial aceptable.

Por otro lado, Ganesh (2010) utilizó su investigación para garantizar que se requiera una gran cantidad de AE en alimentos con mayor contenido de lípidos. También señaló que se necesita más investigación para usar AE naranja para mejorar la vida útil de los productos cárnicos, como la investigación in vivo y su integración en varios métodos de obstáculos. Además, Ganesh (2010) afirmó en otro estudio que varios AE y sus compuestos tienen efectos antimicóticos y antibacterianos probados en *E. coli* O157:H7 y *Salmonella* prevaeciente al jugo de manzana. Se infiere que los compuestos más activos contra *E. coli* incluyen aceite de orégano, carvacrol, timol, citral, geraniol, eugenol, clavo, hoja y corteza de la canela en extractos aceitosos, aceite de limón y limón.

En lo que respecta a la bacteria *Salmonella Hadar*, la actividad de carvacrol, timol, citral, linalol, terpineol, geraniol, a. de orégano, a. de melisa, a. hoja de canela, a. de limón y a. de hierba de limón; es mayor. Las actividades antifúngicas y antibacterianas aumentan con el tiempo de almacenamiento de incubación. La acidez no tiene efecto sobre el potencial antibacteriano. Friedman (2004) ha probado con éxito que los compuestos AE (como el timol, el eugenol y el mentol) se pueden usar como recubrimientos para las fresas para retrasar la descomposición después de la cosecha.

A su vez, Wang (2007) desarrolló una solución de lavado en su investigación que contiene timol, que puede reducir el contenido de *Salmonella* de uvas y tomates en 7,5 log sin cambiar el color, el pH, la textura y la sensibilidad de los tomates y la calidad de las uvas. Durante el almacenamiento a 4 °C y 22 °C durante 16



días. Este tratamiento también redujo la bacteria aeróbica en los tomates en 1,3 log, y al mismo tiempo redujo la *Salmonella* en el agua en 5 log, reduciéndolo.

No solo en frutas y verduras, sino también en productos cárnicos, se han evaluado los efectos antifúngicas y antibacterianos de EA. Hayouni (2008), afirma que la carne molida inoculada con *Salmonella enteritidis* y *Salmonella* se agregó con AE de salvia tunecina (*Salvia officinalis* L.) y pimienta peruana (*Schinus molle* L.) y se recolectó en almacenamiento en frío 15 día. Cuando la concentración es inferior al 0,1% (p/v), solo se observa el efecto bactericida y, a medida que aumenta el porcentaje, el efecto bactericida se vuelve más efectivo.

También, Nannapaneni (2009) estudió el potencial antifúngica y antibacteriano del aceite de naranja Valencia sin terpenos prensados en frío y limoneno aislado del pollo entero en *Campylobacter jejuni*, y aplicó el aceite a los pollos: muslos y piernas. La fuerza antimicótica y antibacteriana de cualquier fracción de aceite de naranja en las dos partes del pollo no se vio afectada; el aceite de naranja se usó para reducir las células de *Campylobacter jejuni* unidas a la piel en 1,5 a 3 log, mientras que el limoneno causó una inhibición completa sin detección, sobreviviendo a las células.

En otro estudio, se evaluó el efecto de *Satureja horvatii* en productos de carne de cerdo picada. La composición química del aceite es p-cimeno (33,1%), timol (26,1%) y timol metil éter (15,1%). Los AE inhiben el crecimiento de *Listeria monocytogenes* inoculados en la carne (Nannapaneni, 2009).

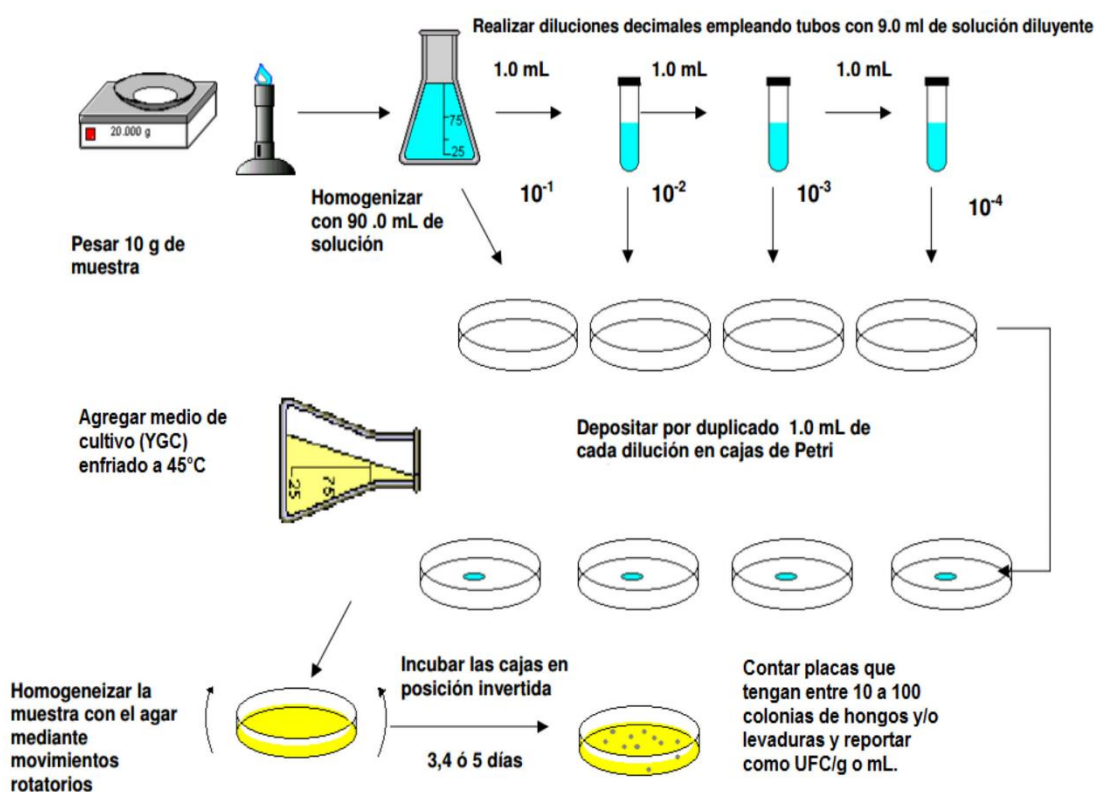
Por su parte, Bukvicki (2014) afirma que el sabor, como también la coloración de la carne que no ha sido tratada con AE se mejora después de cuatro días de almacenamiento refrigerado. Además, evaluó los efectos antifúngicas y antibacterianos del ácido láurico en salchichas toscanas frescas almacenadas a 7 °C durante 14 días. Trato la salchicha toscana con una concentración de aceite de 0,05g/100g o 0,1g/100g, y comparo la vida útil con las salchichas no tratadas. El aceite puede reducir la forma de *E. coli* en aproximadamente 3 log-UFC y así extender la vida útil de las salchichas en dos días. En ambas concentraciones,

los consumidores aceptaron las propiedades organolépticas de la salchicha procesada.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Materiales

Rios & Villar (2009) asevera que las pruebas de actividad antifúngica y antimicrobiana se pueden clasificar como métodos de difusión, dilución o bioautografía. Para Davidson & Parish (2011) los principios y la práctica de estos métodos de prueba se explican en la literatura, pero parece que no se ha desarrollado una prueba estandarizada para valorar la propiedad antifúngica y antimicrobiana en los posibles conservantes frente a los microorganismos concernientes en los productos alimenticios, aunque la necesidad de hacerlo ha sido señalada. La figura 6 muestra el método de dilución en caldo.

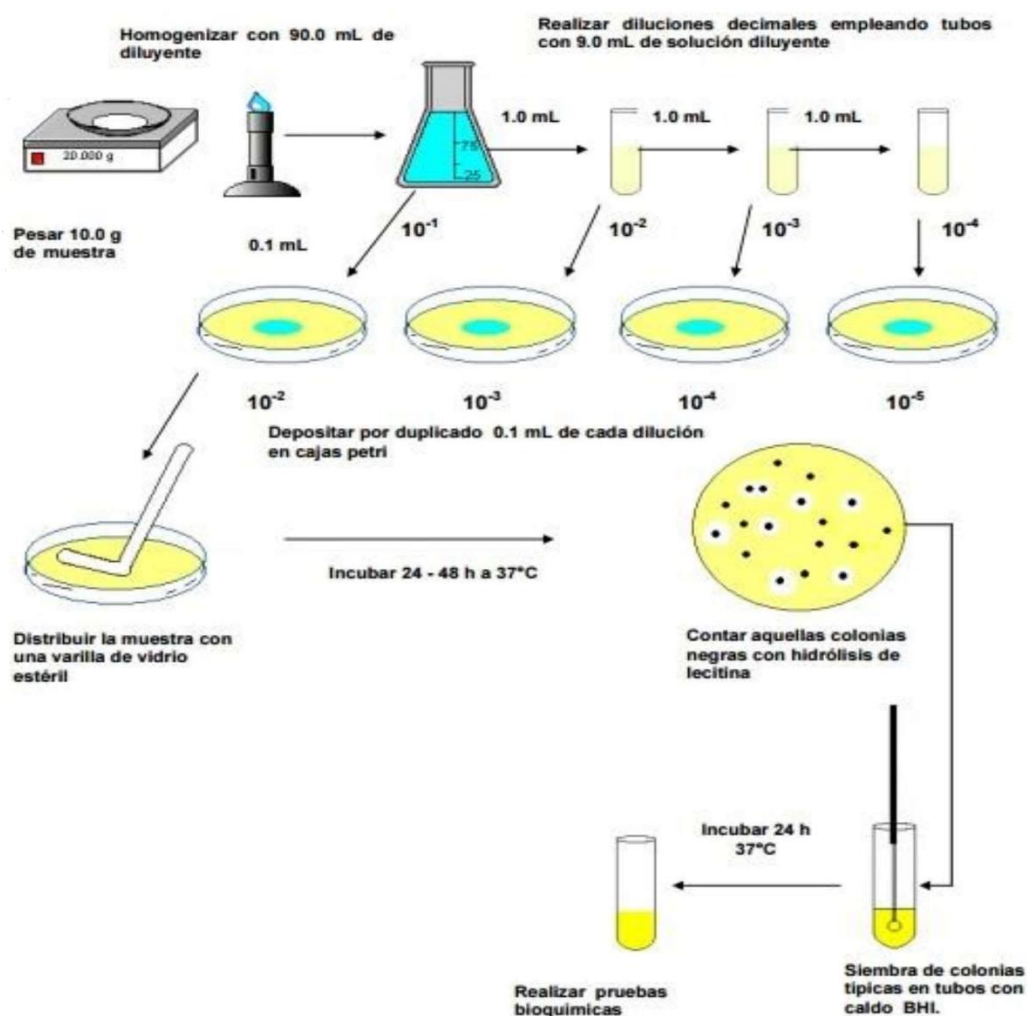


**Figura 6.** Métodos de dilución. **Fuente:** Davidson & Parish (2011).

Por su parte, Hammer, Carson y Riley (2014) afirmaron que el método de prueba de susceptibilidad antimicótica y bacteriana NCCLS, que se utiliza

principalmente para probar antibióticos, se ha modificado para probar AE. Los investigadores ajustaron sus métodos experimentales para representar mejor las posibles aplicaciones futuras en sus campos específicos. Sin embargo, los resultados de la prueba pueden verse afectados por muchos factores, como el método de extracción de AE de los materiales vegetales, el volumen del inóculo, el período de crecimiento, el medio utilizado, el pH del medio y el tiempo y temperatura de incubación, y los datos publicados.

En documentos publicados desde entonces, el número de variaciones en el medio de cultivo, el tamaño del inóculo, la elección del emulsionante y el método de prueba básico ha aumentado aún más (Karatzas, 2010). La figura 7 muestra un ejemplo en la detección antifúngica del *Staphylococcus aureus* por dilución.



**Figura 7.** Determinación de *Staphylococcus aureus* en alimento. Fuente: Davidson & Parish (2011).

Para Janssen (2010), la mayoría de los investigadores usan la concentración inhibitoria mínima (MIC) como una medida del rendimiento antibacteriano de la AE. La definición de MIC varía entre publicaciones, que es otra barrera entre los estudios comparativos. En algunos casos, la concentración bactericida mínima (MBC) o concentración inhibitoria está marcada, estos dos términos son muy consistentes con MIC. La Tabla 7 enumera los términos más utilizados en las pruebas de actividad antibacteriana AE. Además, el término "concentración asesina mínima" se ha utilizado, pero no está definido. Al menos en la literatura sobre AE en microbiología alimentaria, los términos mínima dilución letal mínima (o concentración) y mínima dilución inhibitoria mínima están descontinuados.

**Tabla 7.**

*Términos utilizados en las pruebas de actividad antifúngica y antibacteriana*

<b>Término</b>	<b>Definición, con referencia a la concentración de AE</b>	<b>Referencia</b>
	Concentración más baja que resulta en el mantenimiento o la reducción de la viabilidad del inóculo.	Carson (2015)
	Concentración más baja requerida para la inhibición completa del organismo de prueba hasta 48 h de incubación	Wan (2013)
Concentración inhibitoria mínima (MIC)	Concentración mínima que impide el desarrollo observable del organismo que está a prueba	Onawunmi (2009)
	Concentración más baja interviniendo en una reducción importante de la viabilidad del inóculo (> 90%)	Cosentino (2009)

Concentración bactericida mínima (MBC)	Concentración donde se destruye el 99.9% o más del inóculo inicial	Cosentino (2009)
	Concentración más baja a la que no se observa crecimiento después de subcultivar en caldo fresco	Onawunmi (2009)
Concentración bacteriostática	Concentración más baja a la que las bacterias no crecen en el caldo, pero se cultivan cuando el caldo se coloca en placa sobre agar	Smith-Palmer (2014)
Concentración bactericida	Concentración más baja a la que las bacterias no crecen en el caldo y no se cultivan cuando el caldo se coloca en placas sobre agar	Smith-Palmer (2014)

Nota: Términos utilizados en las pruebas de actividad antifúngica y antibacteriana adaptado de Smith-Palmer (2014).

La Tabla 8 resume las técnicas utilizadas para evaluar la actividad antibacteriana de AE. La detección de actividad antifúngica y antibacteriana de AE generalmente se lleva a cabo empleando la metodología por difusión de disco, por medio del cual que se coloca un disco de papel empapado con AE en una placa de agar inoculada.

En este contexto, Denyer (2011) generalmente se usa como un control preliminar de la actividad antifúngica antes de realizar estudios más detallados. Entre los estudios, factores como el volumen de AE colocado en la placa de papel, el espesor en la cubierta de agar o también el uso o no de solventes. Esto significa que este método es útil para elegir entre AE, pero no es factible comparar los datos publicados. Cuando es necesario verificar una gran cantidad de AE y/o una gran cantidad de aislamientos bacterianos, se puede utilizar una prueba de agujero de agar en la que se deposita AE en un agujero cortado en agar como método de detección. Para facilitar la visualización del crecimiento bacteriano,

se puede agregar cloruro de trifenil tetrazolio al medio de crecimiento (Mourey, 2012).

**Tabla 8.**

*Métodos de prueba utilizados para medir la actividad antibacteriana de las AE y sus componentes*

Propósito	Método de prueba	Referencia	
Detección de actividad antibacteriana	Difusión de disco	Aureli (2012)	
	Pozos agar	Deans (2013)	
	Método de dilución de agar	Farag (2010)	
Determinación de la resistencia de las propiedades antibacterianas	Crecimiento visible	Delaquis (2012)	
	Densidad óptica/turbidez	Chaibi (2007)	
	Absorbancia	Mejlholm (2012)	
	Dilución de caldo	Colorimétrico	Gill (2012)
		Conductancia/conductividad /impedancia	Marino (2011)
		Recuento viable	Beuchat (2006)
Determinación de la rapidez y duración de la actividad antibacteriana.	Análisis de tiempo muerto / curvas de supervivencia	Cressy (2013)	
Observación de los efectos físicos de la actividad antibacteriana	Microscopía electrónica de barrido	Lambert (2011)	

Nota: Métodos de prueba utilizados para medir la actividad antibacteriana de las AE con sus componentes, adaptada de Lambert (2011).

Pintore (2012) se puede determinar la fuerza de la actividad antifúngica y antimicrobiana diluyendo AE en agar o caldo. Los trabajos divulgados que emplean diluciones de agar han usado múltiples solventes que integran AE al

centro del cultivo, inoculándose con variados volúmenes de solución (1-100  $\mu$ l), algunas veces manchándolo y algunas veces rascando la superficie del agar.

Para Farag (2010), a pesar de estos cambios, el AE MIC determinado por el método de dilución de agar parece ser aproximadamente del mismo orden de magnitud. En los estudios de dilución de caldo, existen varias técnicas diferentes para determinar el punto final: el método más utilizado es medir la densidad óptica (DO) (turbidez) y contar las colonias a través de conteos factibles. El primer método tiene la ventaja de ser automatizado; este último es laborioso.



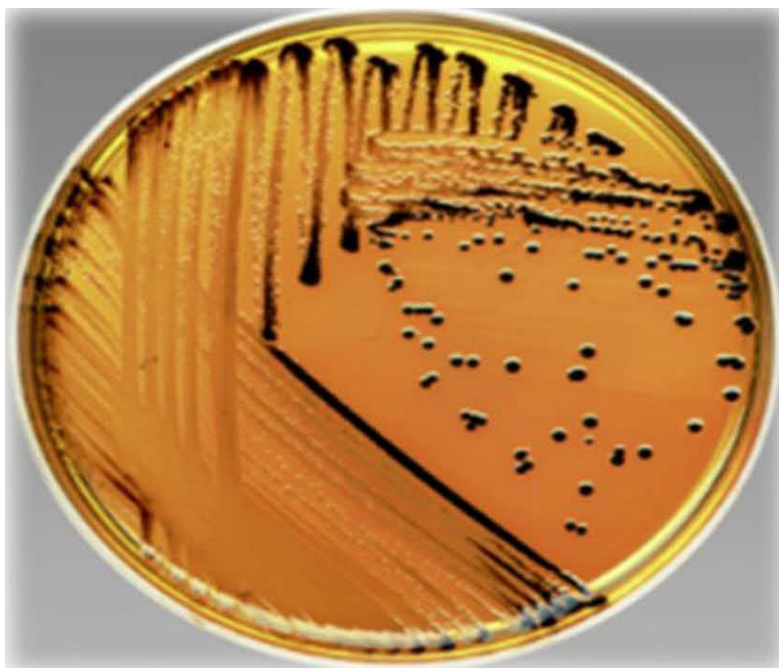
**Figura 8.** Colonias sospechosas vistas por DO. **Fuente:** Farag (2010)

Las mediciones de conductancia/conductividad y la determinación del punto final mediante monitoreo visual se han utilizado con menos frecuencia. También, Mann (2008) asegura que un nuevo método de microdilución para determinar la MIC de compuestos a base de aceite utiliza el indicador redox resazurina como un indicador visual de la MIC. Los resultados se comparan favorablemente con los obtenidos por conteo viable y medición de OD y el método es más sensible que el método de dilución de agar.

Se ha utilizado un indicador de color plateado basado en resazurina para determinar los MIC para extractos metanólicos de materiales vegetales y AE; el método puede automatizarse midiendo el punto final por fluorescencia en lugar de medios visuales. El cloruro de trifetil tetrazolio se ha utilizado para la

determinación visual del punto final en el estudio del aceite de árbol de té en caldo pero, aunque es un indicador del crecimiento bacteriano, el cambio de color no se correlaciona completamente con el MIC (Carson, 2015).

Skandamis (2011) afirma la rapidez de un efecto bactericida o fúngico, la duración de un efecto bacteriostático se puede determinar mediante análisis de tiempo muerto (gráfico de curva de supervivencia) mediante el cual el cúmulo de células viables reposando en medio del caldo después de la adición de AE se representa en función del tiempo. Los métodos utilizados con mayor frecuencia para esto son la medición de OD y el recuento viable después de colocar en placas sobre agar. La afectación a la pared celular bacteriana y la pérdida de contenido celular pueden estudiarse mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). La figura 9 muestra colonias de *Salmonella* spp.



**Figura 9.** Colonias de *Salmonella* spp., en medio SS. **Fuente:** Skandamis (2011)

La preparación cuidadosa de las muestras para SEM es necesaria para garantizar que la diferencia observada entre las células de control y tratadas se deba al efecto de la AE y no al método de preparación. Este material es muy costoso para el análisis de propiedades antifúngicas y antibacterianas en los alimentos debido a la potencia de enfoque del microscopio electrónico.



## 4.2. Métodos

En los métodos Chaibi (2013) asegura que varios estudios han utilizado la medición de OD o conductancia para realizar cálculos adicionales en lugar de establecer directamente el MIC. El OD de la suspensión de prueba y el control puede usarse para calcular un índice de inhibición. Las mediciones de conductancia se pueden usar para calcular el período transcurrido antes de que se pueda detectar el crecimiento, el tiempo de detección (DT), después del tratamiento de las células con AE.

También, Skandamis (2011) la comparación de la tasa de crecimiento específica máxima ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ) de bacterias basada en datos de recuentos viables o mediciones de absorbancia también se ha realizado en varios estudios. Se ha encontrado que un nuevo método para calcular el MIC a partir de mediciones de OD, es adecuado para probar combinaciones de sustancias antifúngicas y antibacterianas. En un estudio, el porcentaje de AE que resultó en una disminución del 50% en el recuento viable se determinó a partir de parcelas de porcentaje de muerte contra concentración. La diversidad de formas de informar la actividad antifúngica y antibacteriana de los AE limita la comparación entre los estudios y podría conducir a la duplicación del trabajo (Friedman, 2004).

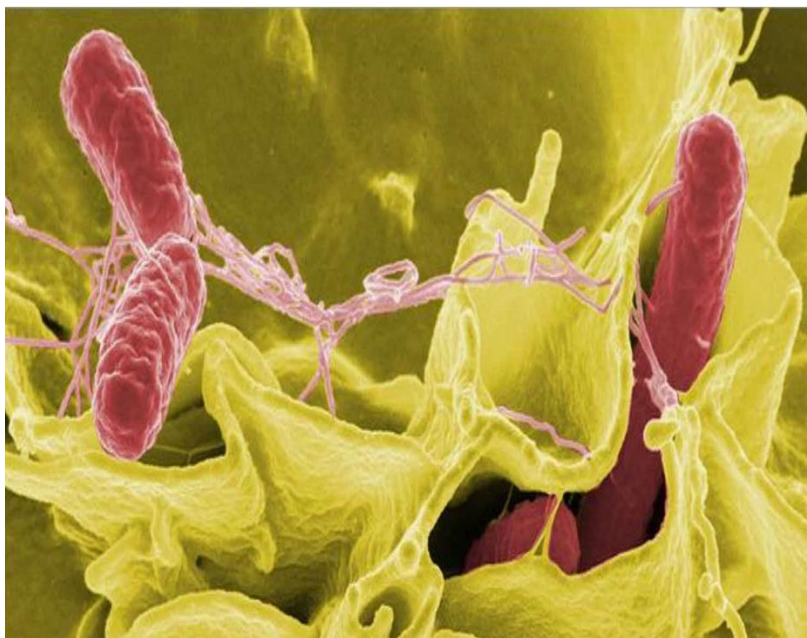
Para Remmal (2013) una característica de los métodos de prueba que varía considerablemente, es si se utiliza o no un emulsionante o disolvente para diluir el AE o también para asegurar la densidad del caldo a base de agua. Se han utilizado varias sustancias para este propósito: Tween-20, etanol, Tween-80, polietilenglicol, propilenglicol, *n*-hexano, dimetilsulfóxido, metanol y agar. Sin embargo, varios investigadores encontraron innecesario utilizar un aditivo en la solución (Skandamis, 2011).

Por su parte Burt (2004) asevera que se empleó agitación vigorosa en solución salina de fosfato para suspender el AE. El rendimiento de los disolventes más utilizados, etanol y Tween-80, se ha comparado con el de agar para la estabilización de orégano y aceites de clavo. Se encontró que el uso de agar (0,2%) produce una dispersión tan homogénea como una solución verdadera en

etanol absoluto. Además, las MIC de orégano y AE de clavo fueron significativamente menores en presencia de agar que en presencia de etanol o Tween-80.

Se concluyó que los solventes y detergentes podría disminuir el efecto antifúngica y antibacteriano de los AE. Esto se ve respaldado por el hecho de que Tween-80 se ha recomendado como neutralizador de desinfectantes fenólicos y esto se ha confirmado en el trabajo sobre la acción del aceite de tomillo contra *Salmonella typhimurium*. También se ha demostrado que Tween-80 protege a *L. monocytogenes* de la actividad antifúngica y antibacteriana de un componente de AE durante los ciclos de congelación-descongelación. Una desventaja adicional del uso de Tween-80 para disolver AE es el hecho de que la turbidez de la dispersión resultante puede dificultar las observaciones visuales y las mediciones de OD (Burt, 2004).

La figura 10 muestra el método de microscopía electrónica de la *Salmonella typhimurium*.



**Figura 10.** Microscopía electrónica de *Salmonella typhimurium*. Fuente: Remmal (2013)

En las Tablas 9 y 10 se presenta una selección de MIC para AE y componentes de AE probados in vitro contra microorganismos propiciados por productos

alimenticios. Considerando diversidad en métodos de prueba, aislados bacterianos (clínicos o de referencia) y los orígenes de las AE utilizadas, el rango de MIC aparece considerablemente estrecho en la mayoría de los casos.

**Tabla 9.**

*Selección de MIC de AE probados in vitro contra patógenos transmitidos por alimentos*

Planta de la cual se deriva el AE	Especies de bacterias	MIC, rango aproximado ( $\mu\text{l ml}^{-1}$ ) <sup>b</sup>	Referencias
Orégano	<i>S. typhimurium</i>	1,2	Prudent (2015)
	<i>Staph. aureus</i>	0,6 – 1,3	Hammer (2010)
	<i>E. coli</i>	0,6 – 1,3	Prudent (2015)
Tomillo	<i>S. typhimurium</i>	0,450 – 0,20	Farag (2010)
	<i>E.coli</i>	0,460 – 0,20	Cosentino (2009)
	<i>Staph. aureus</i>	0,20 – 2,50	Smith-Palmer (2014)
	<i>L. monocytogenes</i>	0,156 – 0,45	Firouzi (2008)

Se seleccionan AE derivados de plantas utilizadas como hierbas, especias o infusión en la cocina y MIC para una selección de patógenos importantes transmitidos por alimentos.

(b) = En las referencias MIC se han reportado en las unidades ppm,  $\text{mg ml}^{-1}$ ,  $\%(v/v)$ ,  $\mu\text{l l}^{-1}$  y  $\mu\text{g ml}^{-1}$ . Para facilitar la comparación, estos se han convertido a  $\mu\text{l ml}^{-1}$ , por lo cual se supuso que las AE tienen la misma densidad que el agua. En algunas referencias, el MIC se denominó concentración bactericida o bacteriostática mínima Smith-Palmer (2014)

**Tabla 10.**

Selección de MIC de componentes de AE probados *in vitro* contra patógenos transmitidos por alimentos

Componente de aceite esencial	Especies de bacterias	MIC, rango aproximado ( $\mu\text{l ml}^{-1}$ ) <sup>b</sup>	Referencias
	<i>B. cereus</i>	0,185 – 0,9	Pol (2009)
	<i>L. monocytogenes</i>	0,371 – 5,00	Cosentino (2009)
Carvacrol	<i>E. coli</i>	0,223 – 5,00	Kim (2005)
	<i>Staph. aureus</i>	0,175 – 0,450	Kim (2005)
	<i>S. typhimurium</i>	0,223 – 0,25	Cosentino (2009)
	<i>B. cereus</i>	0,455 – 0,449	Cosentino (2009)
	<i>L. monocytogenes</i>	0,455 – 0,449	Cosentino (2009)
Timol	<i>E. coli</i>	0,223 – 0,450	Cosentino (2009)
	<i>Staph. aureus</i>	0,141 – 0,225	Lambert (2011)
	<i>S. typhimurium</i>	0,056 – 0,057	Cosentino (2009)

Se seleccionan los componentes de AE presentes en las plantas utilizadas en la cocina y MIC para una selección de patógenos importantes transmitidos por los alimentos.

(b) = En las referencias MIC se han reportado en las unidades  $\text{mg ml}^{-1}$ ,  $\%(v/v)$ ,  $\mu\text{l l}^{-1}$  y  $\text{mmol l}^{-1}$ . Para facilitar la comparación, estos se han convertido a  $\mu\text{l ml}^{-1}$ , por lo cual se supuso que las AE tienen la misma densidad que el agua. En algunas referencias, el MIC se denominó concentración bactericida mínima Cosentino (2009).

### 4.3. Estadística

Para Board (2001) aunque, como se mencionó anteriormente, un pequeño número de conservantes de alimentos que contienen AE está disponible comercialmente, hasta principios de la década de 1990 se habían publicado muy pocos estudios sobre la actividad de los AE en los alimentos. Desde entonces, se han llevado a cabo un buen número de ensayos con AE en alimentos. En la tabla 11 se presenta una descripción general de la literatura que informa sobre los estudios y el efecto antifúngica-antibacteriano de las AE o sus componentes en los alimentos (Tassou, 2006). La figura 11 ilustra un ejemplo de la apariencia de *E. coli* en los productos alimenticios.



**Figura 11.** Microscopia confocal de *E. coli*. Fuente: Shelef (2013)

Por su parte, Shelef (2013) aunque el AE funciona bien en ensayos antifúngicas y antibacterianos in vitro, generalmente se ha encontrado que se necesita una mayor concentración de AE para lograr el mismo efecto en los alimentos. Se ha registrado que la proporción es aproximada de 25 hasta 100 disoluciones para el queso blando, unas 10 disoluciones en las salchichas derivadas del hígado del cerdo, o disolución doble para la leche semidescremada.

Una excepción a este fenómeno es *Aeromonas hydrophila*; no se necesitaba una mayor proporción de AE para inhibir esta especie en carne de cerdo cocida y lechuga en comparación con las pruebas in vitro (Wan, 2013). Varios estudios han registrado el efecto de los alimentos sobre la resistencia microbiana a los

AE, pero ninguno parece haberlo cuantificado o explicado el mecanismo, aunque se han sugerido las posibles causas.

Para Tassou (2006) la mayor disponibilidad de nutrientes en los alimentos en comparación con los medios de laboratorio puede permitir que las bacterias reparen las células dañadas más rápido. Las propiedades intrínsecas de los alimentos (sal, pH, conservantes, antioxidantes, contenido de agua-grasa-proteínas y demás agregados) no solo son relevantes a este, respecto los determinantes extrínsecos (temperatura, envasado al vacío/gas/aire, características de los microorganismos) también puede influir en la sensibilidad bacteriana.

En general, la susceptibilidad de las bacterias al efecto antifúngica y antimicrobiano de los AE también parece aumentar con una disminución en el pH de los alimentos, la temperatura de almacenamiento y la cantidad de oxígeno dentro del envase. A pH bajo, la hidrofobicidad de un AE aumenta, lo que le permite disolverse más fácilmente en los lípidos de la membrana celular de las bacterias objetivo (Juven, 2014).

En general, se cree que el alto contenido de proteína y/o grasas de los productos alimenticios logran proteger a los microorganismos de la acción de los AE en alguna forma. Por ejemplo, si el AE se disuelve en la fase lipídica del alimento, habrá relativamente menos disponibilidad para actuar sobre las bacterias presentes en la fase acuosa (Mejlholm, 2012). Otra sugerencia es que el menor contenido de agua de los alimentos en comparación con los medios de laboratorio puede dificultar el progreso de los agentes antibacterianos al sitio objetivo en la célula bacteriana (Smith-Palmer, 2014).

La tabla 11 muestra una descripción de estudios que prueban la actividad antifúngica y antibacteriana de los AE o sus componentes en los alimentos. En el epígrafe 5 del presente estudio se realizará un análisis y discusión de los resultados de varios autores que han analizado la acción antifúngica de los compuestos fenólicos timol y carvacrol en reemplazo de conservantes sintéticos.

Tabla 11.

Descripción de estudios que prueban la actividad antifúngica y antibacteriana de los AE o sus componentes en los alimentos

Grupo alimenticio	Alimento	AE o componente	Concentración aplicada	Concentración aplicada ( $\mu\text{l g}^{-1}$ ) o ( $\mu\text{l ml}^{-1}$ )	Especies bacterianas	Notas sobre configuración experimental**	Observaciones		Referencias
							Extensión de la fase de retraso del crecimiento o	Reducción de la población final***	
Carne	Carne molida	Aceite de orégano	0,05-1%	0,5-10	<i>Flora natural</i>	Tres regímenes de envasado probados: aire, dióxido de carbono y atmósfera modificada (40% $\text{CO}_2$ , 30% $\text{N}_2$ , 30% $\text{O}_2$ )	n.d.****	+	Skandamis (2011)
	Filetes de res	Aceite de orégano	0,8% v/w	8	<i>L. monocytogenes</i> entre flora natural	Envasado en atmósfera modificada (40% $\text{CO}_2$ , 30% $\text{N}_2$ , 30% $\text{O}_2$ ) y envasado en aire	En MAP pero no en aire	MAP: +++ Aire: +	Prudent (2015)
	Carne de cerdo picada	Aceite de tomillo	0,02 ml mezclada con 25g de carne	0,8	<i>L. monocytogenes</i>	Envasado en aire	Si	+	Aureli (2012)
	Producto de cerdo picado envasado al vacío	Aceite de orégano	100-200 ppm	0,1-0,2	<i>Esporas C. botulinum</i>	Dos niveles de inoculación	No	0	Ismail (2012)
Pescado	Camarones cocidos	Aceite de tomillo, cinamaldehído	0,75-1,5% y 0,15-0,3% en recubrimiento respectivamente	5,7-15 y 1,5-3 en recubrimiento respectivamente	<i>Pseudomonas putida</i>		Muy ligera	++	Ouattara (2011)
	Filete de mero rojo, en cubos	Carvacrol	0,5-3,0% w/v en solución de inmersión	5-30 en solución de inmersión	<i>S. typhimurium</i>		Carvacrol en 30 $\mu\text{l ml}^{-1}$ mata a todas las células	++	Kim (2015)
	Lubina asiática, entera	Aceite de tomillo o aceite de orégano	0,05% v/v (sic) sellado en envases con pescado entero	0,5	<i>Flora natural</i>		Tanto en superficie como en carne	Superficie: ++ Carne: +	Harpaz (2013)

	Filetes de bacalao	AE orégano	0,05% v/w	0,5	<i>Photobacterium, phosphoreum</i>		Si	+	Mejlholm (2012)
	Filetes de salmón	AE orégano	0,05% v/w	0,5	<i>Photobacterium, phosphoreum</i>		No	0	Mejlholm (2012)
	Taramasalad (ensalada de huevas de bacalao)	AE orégano	0,5-2,0% v/ww	5-20	<i>S. enteritidis</i>	Varios pH y de temperaturas almacenamiento probados	Si	+++	Koutsoumanis (2016)
<b>Lechería</b>	Leche semidescremada	Carvacrol	1,9-2,9 mmol l <sup>-1</sup>	0,29-0,46	<i>L. monocytogenes</i>	Dos temperaturas	Si	++	Mejlholm (2012)
	Lechuga romana	AE tomillo	0,1-10 ml l <sup>-1</sup> en solución de enjuague	0,09-9,9	<i>E. coli O157:H7</i>	AE añadido al agua de lavado	Si	++	Singh (2012)
<b>Vegetales</b>	Zanahorias	AE tomillo	0,1-10 ml l <sup>-1</sup> en solución de enjuague	0,09-9,9	<i>E. coli O157:H7</i>	AE añadido al agua de lavado	Si	+ hasta ++	Singh (2012)
	Ensalada de berenjenas	AE orégano	0,7-2,1% v/w	7-21	<i>E. coli O157:H7</i>	Cuatro temperaturas de almacenamiento y tres pH diferentes.	Si	++	Skandamis (2011)
	Semillas de alfalfa	Timol	600 mg l <sup>-1</sup> en aire		<i>Salmonella spp., seis serotipos</i>	Fumigación a 50 o 70 °C	n.d.	50 °C: + 70 °C: ++	Weissingner (2011)
<b>Arroz</b>	Arroz hervido	Carvacrol	0,15-0,75 mg g <sup>-1</sup>	0,15-0,75	<i>Flora natural, B. cereus</i>		Si, efecto dependiente de la dosis	++	Ultee (2002)
	Kiwi	Carvacrol	1 mM en solución de inmersión	0,15 µl ml <sup>-1</sup> en solución de inmersión	<i>Flora natural</i>		n.d.	+++	Roller (2012)
<b>Fruta</b>	Melón	Carvacrol	1 mM en solución de inmersión	0,15 µl ml <sup>-1</sup> en solución de inmersión	<i>Flora natural</i>		Si	0	Roller (2012)

En los documentos en los que se ha estudiado el efecto combinado de un AE o un componente AE en combinación con otro método de conservación, solo se citan los resultados del AE probados.

\* Para facilitar la comparación, la concentración de AE o componente AE aplicado se ha convertido en µl g<sup>-1</sup> o µl ml<sup>-1</sup> de alimento, por lo que se asumió que las AE tienen la misma densidad que el agua. Cuando no se pudo calcular la conversión debido al método experimental, esta columna se deja en blanco.

\*\* Los productos se almacenaron principalmente bajo refrigeración, pero las temperaturas utilizadas oscilan entre 2 y 30 °C.

\*\*\*Se ha utilizado la siguiente clasificación:

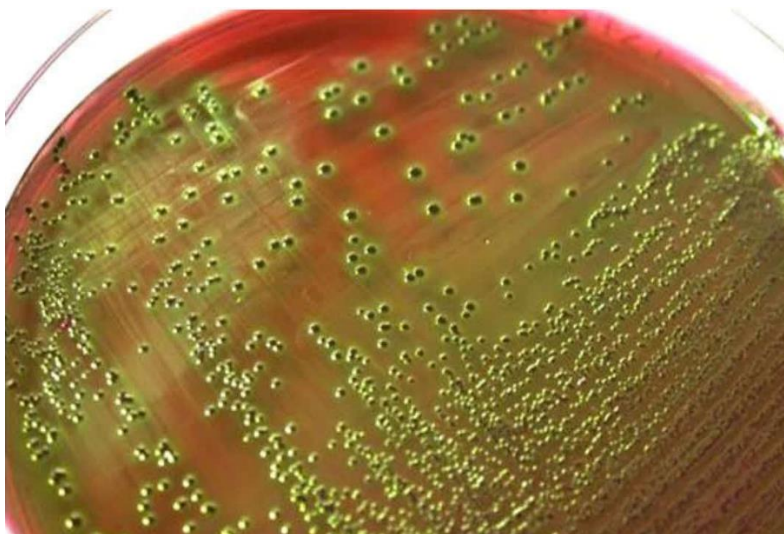
- +++ Gran reducción en comparación con el registro (> 3 log cfu g<sup>-1</sup> o ml<sup>-1</sup> menos)
- ++ Reducción media en comparación con el registro (1,5 a 3,0 log cfu g<sup>-1</sup> o ml<sup>-1</sup> menos)
- + Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log cfu g<sup>-1</sup> o ml<sup>-1</sup> menos)
- 0 Efecto insignificante en comparación con el control
- Ligera estimulación del crecimiento en comparación con el control (hasta 1,5 log cfu g<sup>-1</sup> o ml<sup>-1</sup> menos)
- Estimulación media del crecimiento (> 1,5 log cfu g<sup>-1</sup> o ml<sup>-1</sup> más)

Estas clasificaciones se aplican al punto final del experimento, que varía entre referencias de 15 minutos a 33 días.

\*\*\*\* n.d. = no hecho



Wendakoon (2013) asegura que se ha presentado una reacción entre el carvacrol, un componente fenólico de varios AE, y las proteínas como factor limitante en la actividad antifúngica y antibacteriana contra el *Bacillus cereus* en la leche. Los carbohidratos en los alimentos no parecen proteger a las bacterias de la acción de las AE tanto como lo hacen las grasas y las proteínas. Un nivel alto de agua y/o sal facilita la acción de las AE. Por otra parte, la estructura física de un alimento puede limitar la actividad antifúngica y antibacteriana de AE. La figura 12 muestra un ejemplo de la presencia de *Escherichia coli* en gelatina.



**Figura 12.** Presencia de *Escherichia coli*. Fuente: (Hammer, 2014)

Un estudio del rendimiento relativo del aceite de orégano contra *S. typhimurium* en caldo y en gel de gelatina reveló que la matriz de gel reduce drásticamente el efecto inhibitor del aceite. Se especula que esto se debía a la estructura de la matriz de gel que restringe la difusión. Sin embargo, está expuesto que las MIC para un AE particular en el concentrado de dilución bacteriana específica, es generalmente un poco más bajas en caldo que en agar (Hammer, 2014).

Para Wimpenny (2017) la investigación sobre las características de crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Yersinia enterocolitica* en emulsiones de aceite en agua ha demostrado que, dependiendo del tamaño medio de gota de la emulsión, las bacterias pueden crecer en películas, en colonias o como células planctónicas. Se sabe que el crecimiento colonial restringe la difusión de oxígeno y las células situadas dentro de una colonia pueden estar protegidas en cierta

medida por las células externas de los sustratos en la emulsión. Si las gotas de aceite en una emulsión alimenticia son del tamaño apropiado, podría ser posible que las bacterias que crecen dentro de las colonias estén protegidas de la acción de los AE de esta manera.

## 5. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

La tabla 12 muestra el análisis y discusión de resultados sobre estudios a la utilización del carvacrol en reemplazo para conservantes sintéticos.

**Tabla 12.**

*Análisis y discusión uso del carvacrol probados in vitro contra patógenos transmitidos por alimentos*

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN					
Aceite Esencial:		Orégano			
Nombre científico:		<i>Origanum vulgare</i>			
Nombre del componente:		Carvacrol			
Grupo alimenticio	Alimento	Microorganismo	MIC, rango aproximado $ul\ ml^{-1}$	Resultado	Referencias
Carne	Res	<i>Flora natural</i>	0,5 - 10	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos).	Skandamis (2011)
		<i>L. monocytogenes</i>	0,371 – 8,00	Gran reducción en comparación con el control (> 3 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos).	Consentino (2009)
	Cerdo	<i>Esporas C. botulinum</i>	0,1-0,2	0	Ismaiel (2012)
Pescado	Camarón	<i>Pseudomonas</i>	1,5 – 3,00	Reducción media en comparación con el registro (1,4 a 2,9 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Ouattara (2011)

	Pescado (mero rojo, lubina, bacalao, salmón)	<i>S. typhimurium</i>	5 – 30,00	Reducción media en comparación con el registro (1,4 a 2,9 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Kim (2015)
		<i>Flora natural</i>	0,5	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Harpaz (2013)
		<i>Photobacterium</i>	0,5	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Mejlholm (2012)
		<i>Phosphoreum</i>	0,5	0	Mejlholm (2012)
		<i>S. enteritidis</i>	5-20	Gran reducción en comparación con el control (> 3 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Kaoutsoumanis (2016)
Lácteos	Leche semidescremada	<i>L. monocytogenes</i>	0,3 – 0,45	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Karatzas (2010)
Vegetales	Lechuga	<i>E. coli O157:H7</i>	0,9 – 9,9	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Singh (2012)
	Zanahoria	<i>E. coli O157:H7</i>	0,9 – 9,9	Reducción media en comparación con el control (1,4 a 2,9 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Singh (2012)
	Berenjena	<i>E. coli O157:H7</i>	7 - 21	Reducción media en comparación con el control (1,4 a 2,9 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Skandamis (2011)
	Habas	<i>Salmonella spp.</i>	0,3 – 0,55	Reducción media en comparación con el control (1,4 a 2,9 log	Weissinger (2011)

				<i>cfu g<sup>-1</sup> o ml<sup>-1</sup></i> menos)	
Arroz	Arroz cocinado	<i>B. cereus</i>	0,15 – 0,75	Reducción media en comparación con el control (1,4 a 2,9 log <i>cfu g<sup>-1</sup> o ml<sup>-1</sup></i> menos)	Ultee (2002)
Fruta	Kiwi	<i>Flora natural</i>	0,15 – 2,00	Gran reducción en comparación con el control (> 3 log <i>cfu g<sup>-1</sup> o ml<sup>-1</sup></i> menos)	Roller (2012)
	Melón	<i>Flora natural</i>	0,15 – 2,00	0	Roller (2012)

Skandamis (2011) afirma que el carvacrol tiene una ligera reducción de 1,5 log de la *Flora Natural* en la carne de res, mientras que Consentino (2009) asegura que por el contrario para la *L. monocytogenes* el carvacrol es efectivo y tiene una reducción antifúngica de mayor a 3 log. Con respecto a la carne de cerdo Ismaiel (2012) afirma que no hay efectos relevantes para *Espora C. botulim*. En síntesis, se puede afirmar que el carvacrol es muy efectivo para preservar la carne con una reducción promedio de 1,5 log ante microorganismos como *L. monocytogenes* y *Flora Natural* tanto en carne de cerdo como de res.

Ouattara (2011) asegura que la *Pseudomonas* se reducen en 1,5 a 3 log con el uso de carvacrol en el camarón. Por su parte, Kim (2015) afirma que en el pescado se reduce el microorganismo *S. typhimurium* en 1,5 a 3 log. Harpaz (2013) determina que la *Flora Natural* se reduce en el pescado 1,5 log. También, Mejlholm (2012) asevera que la *Phosphoreum* no tiene ningún efecto de reducción. Finalmente, Kaoutsoumanis (2016) afirma que la *S. enderitidis* disminuye en gran cantidad entre los 3 log. En síntesis, funciona en el pescado como conservante porque reduce las *Pseudomonas* en 2,25 log en el camarón y una reducción promedio de 1,65 log en el pescado para microorganismos como *S. typhimurium*, *Flora Natural*, *Phosphoreum* y *S. enderitidis*.

En los lácteos el carvacrol para Karatzas (2010) reduce en 1,5 log su deterioro por el microorganismo *L. monocytogenes*. En síntesis, se puede aportar que en los lácteos hay una ligera respuesta antifúngica y antibacteriana del carvacrol

extraído del orégano como conservante natural, su deterioro se reduce en una cantidad aproximada de 1,5 log.

Para Singh (2012) el carvacrol proporciona una reducción de 1,5 log frente al microorganismo *E. coli O157:H7* en la lechuga; mientras que en la zanahoria la reducción del deterioro es mayor, llega de 1,5 a 3 log, contra esta misma bacteria. Para Skandamis (2011) la reducción del *E. coli O157:H7* es moderada de 1,5 a 3 log en la berenjena. Finalmente, Weissinger (2011) asevera que para las habas la reducción de *Salmonella spp.*, está en nivel medio de 1,5 a 3 log. En síntesis se puede aseverar que en los vegetales el carvacrol actúa efectivamente con una reducción promedio de 2,06 log frente a bacterias como *E. coli O157:H7* y *Salmonella spp.*, siendo más eficiente que en carnes, pescado y lácteos.

Por otra parte, Ultee (2002) asegura que en el arroz cocinado, el carvacrol tiene una reducción moderada de 1,5 a 3 log del microorganismo *B. cereus*. Esto confirma que el carvacrol es muy útil para conservar el arroz porque reduce la *B. cereus* en un promedio de 2,25 log.

En la fruta Roller (2012) asegura que el carvacrol reduce en 3 log la *Flora Natural* en el kiwi, mientras que en el melón no se presenciaron estados de conservación, no existe reducción de este microorganismo. En síntesis, se puede aseverar que el carvacrol si conserva las frutas de microorganismo como la *Flora Natural* con una reducción promedio de 1,5 log.

El carvacrol es excelente para conservar alimentos como el arroz cocinado, los vegetales, los mariscos como el camarón y el pescado; los microorganismos que son mitigados están principalmente en: *Pseudomonas*, *Flora Natural*, *Salmonella spp*, *Phosphoreum*, *S. typhimurium*, *E. coli O157:H7*, *S. enderitidis* y *B. cereus*; entre las principales analizadas en el estudio, ya que el campo de desarrollo de los AE como conservantes naturales es muy extenso.

La tabla 13 muestra el análisis y discusión de resultados sobre estudios a la utilización de timol en reemplazo para conservantes sintéticos.

**Tabla 13.**

*Análisis y discusión uso del timol probado in vitro contra patógenos transmitido por alimentos*

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN					
Aceite Esencial:		Tomillo			
Nombre científico:		<i>Thymus</i>			
Nombre del componente:		Timol			
Grupo alimenticio	Alimento	Microorganismo	MIC, rango aproximado $ul\ ml^{-1}$	Resultado	Referencias
Carne	Res	<i>Flora natural</i>	0,5 – 2,00	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log $cfu\ g^{-1}$ o $ml^{-1}$ menos).	Skandamis (2011)
		<i>L. monocytogenes</i>	0,25 – 7,00	Gran reducción en comparación con el control (> 3 log $cfu\ g^{-1}$ o $ml^{-1}$ menos).	Consentino (2009)
	Cerdo	<i>L. monocytogenes</i>	0,25-0,8	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log $cfu\ g^{-1}$ o $ml^{-1}$ menos)	Aureli (2012)
Pescado	Camarón	<i>Pseudomonas putida</i>	1,25 – 3,00	Reducción media en comparación con el control (1,4 a 2,9 log $cfu\ g^{-1}$ o $ml^{-1}$ menos)	Ouattara (2011)
	Pescado (mero rojo, lubina, bacalao, salmón)	<i>S. typhimurium</i>	2,5 – 20,00	Reducción media en comparación con el control (1,4 a 2,9 log $cfu\ g^{-1}$ o $ml^{-1}$ menos)	Harpaz (2013)
		<i>Flora natural</i>	0,5 – 0,8	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log $cfu\ g^{-1}$ o $ml^{-1}$ menos)	Harpaz (2013)

		<i>Photobacterium</i>	0,5 – 0,8	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Mejlholm (2012)
		<i>Phosphoreum</i>	0,5 – 0,8	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Mejlholm (2012)
		<i>S. enteritidis</i>	6 - 19	Gran reducción en comparación con el control (> 3 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Kaoutsoumanis (2016)
Lácteos	Leche semidescremada	<i>L. monocytogenes</i>	0,25 – 0,40	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Karatzas (2010)
Vegetales	Lechuga	<i>E. coli O157:H7</i>	0,55 – 8	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Singh (2012)
	Zanahoria	<i>E. coli O157:H7</i>	0,5 - 8	Reducción media en comparación con el control (1,4 a 2,9 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Singh (2012)
	Berenjena	<i>E. coli O157:H7</i>	4 - 17	Reducción media en comparación con el control (1,4 a 2,9 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Skandamis (2011)
	Habas	<i>Salmonella spp.</i>	0,250 – 0,45	Reducción media en comparación con el control (1,4 a 2,9 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Weissinger (2011)
Arroz	Arroz cocinado	<i>B. cereus</i>	0,1 – 0,8	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Ultee (2002)
Fruta	Kiwi	<i>Flora natural</i>	0,1 – 0,8	Reducción media en comparación	Roller (2012)

				con el control (1,4 a 2,9 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	
	Melón	<i>Flora natural</i>	0,1 – 0,8	Ligera reducción en comparación con el control (hasta 1,5 log <i>cfu g<sup>-1</sup></i> o <i>ml<sup>-1</sup></i> menos)	Roller (2012)

Skandamis (2011) afirma que el timol reduce el microorganismo *Flora Natural* de forma ligera hasta 1,5 log en la carne de res. Para Consentino (2009) esta reducción es elevada para el *L. monocytogenes* de la carnes de res, es superior a 3 log. Para Aureli (2012) la carne de cerdo se ve beneficiada con el timol porque existe una ligera reducción de hasta 1,5 log del microorganismo *L. monocytogenes*. Con estas afirmaciones, el timol se comporta como un excelente conservante natural porque reduce el deterioro de la carne de res en 2,25 log frente a la *Flora Natural* y *L. monocytogenes*; en la carne de cerdo, es menos efectivo con una única reducción de 1,5 log de la *L. monocytogenes*.

En el camarón Ouattara (2011) afirma que la reducción de *Pseudomas putida* es de 1,5 a 3 log al usar el timol como preservante antifúngica. En el pescado Harpaz (2013) asegura que la reducción del *S. typhimurium* está de 1,5 a 3 log y la *Flora Natural* una reducción ligera de hasta 1,5 log. Por su parte, Mejlholm (2012) afirma que el *Photobacterium* del pescado se reduce de forma ligera hasta 1,5 log junto con el *Phosphoreum* que tiene la misma reducción. Finalmente, Kaoutsoumanis (2016) asevera que la *S. enderitidis* tiene una gran reducción mayor a 3 log en el pescado. Esto significa que el timol permite la conservación del pescado de forma natural porque reduce en 1,95 log microorganismos como la *Flora Natural*, *Photobacterium*, *Phosphoreum* y la *S. enderitidis*; también conserva el camarón porque existe una reducción promedio de 2,25 log para la *S. typhimurium*.

Los lácteos para Karatzas (2010) existe una reducción ligera de hasta 1,5 log del microorganismo *L. monocytogenes* con el uso del timol en la leche



semidescremada. Esto significa que el timol es poco efectivo para la conservación de los lácteos, a pesar de que sí reduce el deterioro por este patógeno, no es completamente eficiente.

Para los vegetales Singh (2012) asegura que el *E. coli* O157:H7 se reduce hasta 1,5 log en la lechuga; de igual forma se reduce en mejor cantidad de ,5 a 3 log en la zanahoria frente al mismo patógeno. Skandamis (2011) afirma que la *E. coli* O157:H7 se reduce de 1,5 a 3 log en la berenjena. Por su parte, Weissinger (2011) asevera que la *Salmonella spp.* Tiene una reducción media de 1,5 a 3 log en las habas. De esta manera, en los vegetales el timol actúa efectivamente con una reducción de 2,25 log de microorganismos como *Salmonella spp.* y *E. coli* O157:H7.

En el arroz cocinado Ultee (2002) asegura que el timol mitiga el microorganismo *B. cereus* en una cantidad ligera de hasta 1,5 log. Esto quiere decir que este componente fenólico de los AE no tiene tanta efectividad para la conservación del arroz cocinado.

En las frutas, Roller (2012) asegura que el kiwi se ve beneficiado para su conservación con el uso del timol, porque reduce en forma moderada de 1,5 a 3 log su deterioro por Flora Natural. En el melón, ocurre lo contrario la *Flora Natural* tiene muy baja reducción de hasta 1,5 log para su preservación. En síntesis, el timol es muy eficiente para controlar la *Flora Natural*, su reducción oscila entre 1,87 log para la descomposición fúngica por el patógeno como la *Flora Natural*.

El timol es un componente fenólico muy activo permite que se encuentra en mayor concentración en el Tomillo, sus propiedades antifúngicas, superan a las del carvacrol como se puede apreciar en esta discusión, en las carne de res protege de la *Flora Natural* y la *L. monocytogenes*, en el camarón de la *S. typhimurium*; en el pescado mitiga la *Flora Natural*, la *Photobacterium*, la *Phosphoreum* y *S. enderitidis*. En los vegetales su conservación está enfocada principalmente en los microorganismos *E. coli* O157:H7 y *Salmonella spp.* Finalmente, las frutas también son bien preservadas por el timol, de patógenos como la *Flora Natural* que destruyen los valores nutricionales de los alimentos.

## 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 6.1.- Conclusiones

Se proporcionó un conocimiento de la acción antifúngica de los compuestos fenólicos denominado carvacrol y timol para reemplazo de conservantes sintéticos sorbatos; estableciendo que el timol es más eficiente en la conservación de carne de res frente a la *Flora Natural* y *L. monocytogenes*, en el camarón para *L. typhimurium* y en los vegetales contra *E. coli* O157:H7 y *Salmonella spp.* Mientras que el carvacrol es más efectivo en el arroz mitigando la *B. cereus*, en el camarón para la *Pseudomonas* y en los vegetales para proteger de los microorganismos *E. coli* O157:H7 y *Salmonella spp.*

Se identificó la acción potencial antifúngica de los compuestos fenólicos denominados carvacrol y timol como posible reemplazo de conservantes sintéticos, estableciendo que tanto el timol como el carvacrol son efectivos en los grupos de alimentos analizados (carnes, pescado, frutas, vegetales, lácteos, arroz) para mitigar la acción microbiana de *Flora Natural*, la *Salmonella spp.*, la *B. cereus*, la *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7 como patógenos prevalentes en la mayoría de casos analizados, con una reducción que va desde 1,87 log  $ml^{-1}$  hasta 2,25 log  $ml^{-1}$  de la acción de deterioro de estas bacterias.

En la recopilación del estado del arte sobre la acción antifúngica de los compuestos fenólicos carvacrol y timol derivados de los AE de las plantas aromáticas como el orégano y el tomillo, disponen de una propiedad antifúngica resultante de la concentración inhibitoria mínima (MIC), que para el orégano es 1,2  $\mu l ml^{-1}$  en contra del microorganismo *S. typhimurium*, de 0,6 a 1,3  $\mu l ml^{-1}$  en contra de la *E. coli* y la *Staph. aureus*. En el tomillo el MIC establecido es de 0,2  $\mu l ml^{-1}$  a 0,450  $\mu l ml^{-1}$  para mitigar a bacterias como la *S. typhimurium* y *E. coli*, de 0,2  $\mu l ml^{-1}$  a 2,5  $\mu l ml^{-1}$  en contra de *Staph. aureus*, y de 0,156  $\mu l ml^{-1}$  a 0,45  $\mu l ml^{-1}$  para mitigar el deterioro del alimento por *L. monocytogenes*.

La viabilidad del uso de compuestos fenólicos como conservantes alimenticios es factible porque en la literatura revisada se demuestra que tanto el timol como

el carvacrol son efectivos para la preservación de los alimentos, porque el timol es capaz de mitigar la acción fúngica del microorganismo *B. cereus* y *L. monocytogenes* con un MIC de  $0,452 \mu\text{l ml}^{-1}$ , contra el *E. coli* con un MIC de  $0,336 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; el *Staph. aureus* con un MIC de  $0,183 \mu\text{l ml}^{-1}$  y mitigar el *S. typhimurium* con un MIC de  $0,0565 \mu\text{l ml}^{-1}$ . Mientras que el carvacrol mitiga la *B. cereus* en un MIC de  $0,542 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; la *L. monocytogenes* con un MIC de  $2,685 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; la *E. coli* con un MIC de  $2,611 \mu\text{l ml}^{-1}$ ; la *Staph. aureus* con un MIC de  $0,312 \mu\text{l ml}^{-1}$  y la *S. typhimurium* con un MIC de  $0,224 \mu\text{l ml}^{-1}$ .

## 6.2.- Recomendaciones

Es necesario extender el estudio de las propiedades antifúngicas de los compuestos fenólicos carvacrol y timol para reemplazo de conservantes sintéticos sorbatos; para el timol al ser más eficiente en la conservación de carne de res; probar en carne de cordero, carne de pollo, de conejo o de cuy frente a microorganismos como la *Flora Natural* y *L. monocytogenes*, en más mariscos y pescados contra la bacteria *L. typhimurium* y en más vegetales contra *E. coli* O157:H7 y *Salmonella spp.* Para el carvacrol, con más cereales como la quinua o el maíz contra la *B. cereus*; en el pulpo, la sardina y el atún contra la *Pseudomonas*; todos estos alimentos de mayor consumo en la región Sierra del Ecuador.

Potenciar la biología sintética en los alimentos por medio de la ingeniería agroindustrial empleando la propiedad antifúngica de los compuestos fenólicos carvacrol y timol como preservantes naturales, estableciendo miPyMES (micro, medianas y pequeñas industrias o emprendimientos inmiscuidos en aerosoles que mitiguen el deterioro alimentario de microorganismos como *Flora Natural*, la *Salmonella spp.*, la *B. cereus*, la *E. coli* O157:H7 y *L. monocytogenes* como patógenos prevalentes, frente a un MIC de reducción promedio de  $2,06 \log \text{ml}^{-1}$  ante la acción de estas bacterias.

Se recomienda a la industria alimentaria del Ecuador emplear los AE extraídos de plantas aromáticas bondadosas en sus propiedades químicas como el

orégano y el tomillo, la incorporación de mayores estudios en otras plantas como la canela, el clavo de olor, el cedrón o el romero, entre otros; para disponer de una base de datos propia de las capacidades antifúngicas de los componentes de estas plantas, con su respectiva concentración inhibitoria mínima (MIC), que pueda servir para la creación de preservantes naturales u otros productos que sirvan para mitigar microorganismos como la *S. typhimurium*, la *E. coli* y la *Staph. aureus*, *L. monocytogenes*, entre otros.

En un evento tan devastador para la economía y la salud de los ecuatorianos, como ha ocurrido con la pandemia COVID-19, en los que la pobreza se verá marcada por varios años para la recuperación del país, es necesario que en coordinación la Ingeniería en Alimentos, la Ingeniería Agroindustrial y la Microbiología, etc., originen productos alimenticios sintéticos, nutricionales, de larga durabilidad, factibles para la economía, y que sirvan para beneficio de la salud del ser humano; en este espectro los AE y los compuestos fenólicos como el carvacrol como el timol remarcan su efectividad fúngica contra microorganismos como *B. cereus* y *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Staph. aureus*, *S. typhimurium*, entre otros.

## REFERENCIAS

- Acevedo**, D. (2013). "Constitución y propiedades químicas del aceite esencial en las plantas de orégano". *Revista nutrición para la alimentación*, 10(20), pp.34-42
- Albado**, E. (2011). "Propiedades antibacterianas y químicas del aceite esencial en la planta de orégano". *Magazine of Herediana Health*, 12(1), pp.21-25.
- Ardila**, H. (2009). "Composants volatils et activité antioxydante des fleurs, tiges et feuilles de capucine officinale". *Research of Natural Products*, 10(26), pp.109-111.
- Arfa**, G. (2016). "Tomillo silvestre, *Thymus capitatus*, cambios estacionales de aceites esenciales y actividad antimicótica". *Revista de Ciencia Hortícola*, 12(67), 131-135.
- Aureli**, P. (2012). "Actividad antimicrobiana de algunos aceites esenciales de plantas contra *Listeria monocytogenes*". *Revista de Protección de Alimentos*, 11(55), 211-217.
- Ávalos**, A., Pérez, E. (2009). "Métabolisme secondaire des plantes". *Revista REDUCA para Biología*, 2(10), pp.115-133.
- Azcon**, J., Talón, M. (2008). "Fondements de la physiologie végétale". *Journal of food science* 77, Reino Unido.
- Azimova**, S. (2012). "Composants lipophiles et huiles essentielles d'origine végétale". *Science Springer Research*, pp.113-125.
- Bakkali**, F. (2008). "Effets biologiques des huiles essentielles". *Toxicologie alimentaire et chimique*, 36(10), pp.61-75.
- Beuchat**, L. (2006). "Sensibilidad de *Vibrio parahaemolyticus* a especies y ácidos orgánicos." *Journal of Food Science*, 9(4), 271-282

- Board, R.** (2001). "Perspectivas futuras con aceites esenciales", *Conservantes de alimentos*, Blackie, Glasgow, pp.77-82.
- Bosack, W.** (2001). "Taxonomy physiology and pathogenicity". *Departament of agriculture MANAGI*, 10(40), pp.56-75.
- Bukvicki, C.** (2014). "Actividad antiviral del aceite esencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel, contra el virus del mosaico del tabaco". *Revista de investigación de aceites esenciales*, 1(10), pp.79-91
- Burdock, G.** (2010). "El manual de ingredientes de sabor de Fenaroli". Sexta Edición, Grupo Taylor y Francis, USA, pp.141-147
- Burt, S.** (2004). "Aceites esenciales: sus propiedades antibacterianas y posibles aplicaciones en alimentos". *Revista internacional de microbiología alimentaria*, 30(57), pp.213-223.
- Carson, C.** (2015). "Susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina al aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*". *Revista de quimioterapia antimicrobiana*, 20(35), pp.121-124
- Castro, A.** (2017). "Inactivación microbiana de alimentos por campos eléctricos pulsados". *Revista de procesos alimenticios*, 5(26), pp.37-39
- Cavada, R.** (2010). "Attività antimicrobica di vanillina e miscele con oli essenziali di cannella e chiodi di garofano nel controllo di *Listeria monocytogenes* ed *Escherichia*". *Tecnologia alimentare e bioprocesso*, 5(20), pp.20-27.
- Chaibi, A.** (2007). "Inhibición de la germinación y el crecimiento vegetativo de esporas de *Bacillus cereus* T y *Clostridium botulinum* 62A por aceites esenciales". *Food Microbiology*, 1(14), pp.121-124
- Chen, Q.** (2014). "Efecto del aceite esencial de citronela en la inhibición de la alternativa *Alternaria* poscosecha en tomate cherry". *Revista de la Ciencia de la Alimentación y la Agricultura*, 10(41), pp.467-471

- Cosentino, S.** (2009). "Actividad antimicrobiana y composición química de los aceites esenciales de timo sardo". *Cartas en Microbiología Aplicada*, 7(29), pp.112-114
- Cressy, H.** (2013). "Un método novedoso para la reducción del número de células de *Listeria monocytogenes* mediante congelación en combinación con un aceite esencial en medios bacteriológicos". *Journal of Food Protection*, 11(69), pp.231-239
- Crosthwaite, D.** (1998). "L'internazionalizzazione delle imprese di costruzioni britanniche: un'analisi empirica". *Economia e gestione delle costruzioni*, 20(16), pp.89-95.
- Croteau, R.** (2000). "Productos naturales en metabolitos secundarios". *Bioquímica y biología molecular de planes*, 10(24), pp.50-69.
- Cutter, C.** (2010). "Efecto antimicrobiano de extractos de hierbas contra *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhimurium* asociados con carne de res". *Revista de Protección de Alimentos*, 10(63), pp.101-107
- Deans, S.** (2013). "Actividad anti-*Listeria monocytogenes* de los aceites esenciales componentes de coníferas". *Acta Horticulturae*, 40(75), pp.167-168
- Davidson, P., Parish, M.** (2011). "Métodos para probar la eficacia de los antimicrobianos alimentarios". *Food Technology*, 10(43), pp.127-133
- Delaquis, P.** (2012). "Actividad antimicrobiana de fracciones individuales y mixtas de aceites esenciales de eneldo, cilantro, cilantro y eucalipto.". *Revista Internacional de Microbiología de Alimentos*, 10(74), pp.80-91
- De Silva, M.** (2015). "Efectos antiinflamatorios del carvacrol: evidencia de un papel clave de la interleucina-10". *Revista Europea de Farmacología*, 7(69), pp.112-115.

- Delgado, J.** (2015). "From the forest to the factory: technique and science of pine resin in contemporary Spain". Autonomous University of Madrid, pp.84-110.
- Denyer, S.** (2011). "Daño inducido por biocidas en la membrana citoplasmática bacteriana: mecanismos de acción de los biocidas químicos". The Society for Applied Bacteriology, 10(27), pp.78-93
- Didry, H.** (2014). "Agentes antimicrobianos de las plantas: actividad antibacteriana de los aceites vegetales volátiles". Revista de Microbiología Aplicada, 10(58), pp.164-163
- Donelian, H.** (2019). "Agentes antimicrobianos de las plantas: actividad antibacteriana de los aceites vegetales volátiles". Revista de Microbiología Aplicada, 11(45), pp.171-184
- Frag, R.** (2010). "Actividad antimicrobiana de algunos aceites esenciales de especias egipcias.". Revista de Protección de Alimentos, 8(52), pp.135-137
- Firouzi, R.** (2008). "Actividad anti-listerial de aceites esenciales de algunas plantas". Revista de investigación animal aplicada, 3(14), pp.85-90
- Friedly, N.** (2009). "Contenido de cinamaldehído en alimentos determinado por cromatografía de gases-espectrometría de masas". Diario de la química agrícola y alimentaria, 7(48), pp.102-109
- Friedman, M.** (2004). "Actividades bactericidas de aceites esenciales de plantas y algunos de sus componentes aislados contra *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella entérica*". Revista de Protección de Alimentos, 9(65), 355-389
- Ganesh, J.** (2010). "Efectos del aceite de árbol de té en *Escherichia coli*". Cartas en Microbiología Aplicada, 10(26), pp.178-179



- Gavina, M.** (2016). "Contribución al estudio de los aceites esenciales". Instituto de investigación y experiencia forestal, España, Madrid, pp.37-66.
- Garay, H.** (2017). "Aceites esenciales: Análisis prospectivo". Institución Educativa Alexander Von Humboldt, pp.76-88.
- Gennari, V.** (2016). "Aromatherapy: A lifetime guide to healing with essential oils". USA, Tercera Edición, Editorial Prentice Hall, pp.112-130.
- Gessner, G.** (2012). "Hawley". Diccionario de productos químicos. Segunda Edición, Editorial OMEGA, pp.81-97.
- Gill, A.** (2012). "Evaluación de la acción antilisterial del aceite de cilantro sobre jamón envasado al vacío". Revista Internacional de Microbiología de Alimentos, 10(73), pp.90-93.
- Gómez, M.** (2017). "Undirected analysis of the essential oil of the varieties clemenules and clemenpons". Essential Oils, pp.45-51.
- Granell, A., Rambla, J.** (2013). "Biosíntesis de compuestos volátiles". Bioquímica y biología molecular de la maduración de frutos, pp.79-98.
- Guenther, E.** (2013). "Los aceites esenciales: origen-historia en el análisis de producción de plantas.". Editorial READBooks, pp.61-67.
- Gulluce, W.** (2017). "Perspectivas de la industria sobre el uso de antimicrobianos e inhibidores naturales para aplicaciones alimentarias". Suplemento Journal of Food Protection, pp.33-39
- Hammer, K., Carson, C., Riley, T.** (2014). "Actividad antimicrobiana de aceites esenciales y otros extractos de plantas". Revista de Microbiología Aplicada, 14(86), pp.117-125
- Hammer, K.** (2010). "Actividad antimicrobiana de aceites esenciales y otros extractos de plantas". Revista de Microbiología Aplicada, 20(55), pp.431-438

- Hayouni, Y.** (2008). "Eficacia de extractos de plantas en la inhibición de *Aeromonas hydrophila* y *Listeria monocytogenes* en aves de corral cocidas refrigeradas". *Microbiología de Alimentos*, 9(11), pp.217-223
- Hussain, N.** (2018). "Detección y medición de la acción combinada de biocidas: mecanismos de biocidas químicos". *Publicaciones científicas de Blackwell*, pp.47-55
- ICMSF.** (2019). "Microorganismos en los alimentos". *International Commission on Microbiological Specification for Foods, Ecología microbiana de los productos alimenticios*, 1(6), New York, pp.123-134
- Jackson, J.** (2016). "Aromaterapia para masajes". Cuarta Edición, Editorial URANO, España, Barcelona, pp.58-67.
- Janssen, A.** (2010). "Actividades antimicrobianas de aceites esenciales: un estudio farmacológico". *Universidad de Leiden*, pp.79-93
- Juven, B.** (2014). "Factores que interactúan con la acción antibacteriana del aceite esencial de tomillo y sus componentes activos". *Revista de Bacteriología Aplicada*, 13(56), pp.133-137
- Kapoor, L.** (2017). "Advances in essential oil industry: Proceedings of symposium on essential oil". *Reino Unido*, pp.27-44.
- Karatzas, A.** (2010). "Acción combinada de S-carvona y tratamiento térmico leve sobre *Listeria monocytogenes*". *Revista de Microbiología Aplicada*, 10(80), 196-202
- Kerrola, K.** (2013). "Agric: Food chemical. Uso de los aceites esenciales en los alimentos", 10(41), pp.90-93.
- Kim, J.** (2015). "Actividad antibacteriana de algunos componentes de aceites esenciales contra cinco patógenos transmitidos por los alimentos.". *Diario de la química agrícola y alimentaria*, 10(43), pp.543-551

- Lambert, R.** (2011). "Un estudio de la concentración inhibitoria mínima y el modo de acción del aceite esencial de orégano, timol y carvacrol.". *Revista de Microbiología Aplicada*, 21(91), pp.213-222
- Laurin, N., Stupar, A.** (2016). "Actividad antibacteriana individual y combinada de los componentes principales de tres aceites esenciales de tomillo". *Revista italiana EPPOS*, 10(15), pp.37-48
- Loewenfeld, C., Back, B.** (1980). "Herb and Spice Guide for Use in Natural Preservative Applications". *Paper on microbiology*, pp.11-14.
- López, C.** (2012). "Mecanismo molecular de la extracción de colesterol mediada por ciclodextrina". Editado por *Biol PLoSComput*, 9(10), pp.16-19.
- Marino, M.** (2011). "Mediciones de impedancia para estudiar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de Lamiacea y Compositae.". *Revista Internacional de Microbiología de Alimentos*, 7(67), pp.97-106
- Martínez, L.** (2001). "Stabilità ossidativa di oli di noce e chia microincapsulati mediante essiccazione a spruzzo". *Magazine Powder Technology*, 10(270), pp.78-81.
- Martínez, M.** (2012). "La aromaterapia en mi vida". Palibrio, Bloomington.
- Matheis, G.** (2015). "Biogénesis de las aromas vegetales y producción de los aceites esenciales". *Report Dragoco*, 2(43), pp.61-69.
- Mejlholm, O.** (2012). "Efecto antimicrobiano de los aceites esenciales en el microorganismo de descomposición de los mariscos *Photobacterium phosphoreum* en medios líquidos y productos pesqueros". *Cartas en Microbiología Aplicada*, 9(34), pp.32-44.
- Morris, G.** (2018). "AutoDock4 y AutoDockTools4: acoplamiento automatizado con flexibilidad selectiva del receptor". *Revista de Química Computacional*, 1(30), pp.37-39.

- Mourey, A.** (2012). "Actividad anti-Listeria monocytogenes de los aceites esenciales componentes de coníferas". *Food Control*, pp. 10(13), pp.176-182
- Moyler, D.** (2014). "Presentado en la Federación Internacional de Aceites Esenciales y Comercios de Aroma". Conferencia internacional sobre aceites esenciales y aroma, Londres, pp.11-12
- Naidu, C.** (2010). "Efectos de una mezcla específica de compuestos de aceites esenciales en la fermentación ruminal". *Feed Science Technology*, 19(19), pp.123-128
- Nannapaneni, P.** (2009). "Actividad antibacteriana del aceite de cúrcuma: un subproducto de la curcumina". *Diario de la química agrícola y alimentaria*, 12(47), pp.187-188
- Olaya, J.** (2016). "Guía de plantas y productos medicinales, extracción y procesamiento". *Serie Tecnología y Ciencia*, 30(50), pp.116-117.
- Onawunmi, G.** (2009). "Evaluación de la actividad antimicrobiana de citral". *Cartas en Microbiología Aplicada*, 2(9), pp.95-100
- Pol, I.** (2009). "Consecuencias bioenergéticas de la nisina combinada con carvacrol hacia *Bacillus cereus*". *Ciencia innovadora de alimentos y tecnologías emergentes*, 1(3), pp.43-49.
- Pintore, G.** (2012). "Composición química y actividad antimicrobiana de los aceites *Rosmarinus officinalis* L. de Cerdeña y Córcega". *Diario de sabores y fragancias*, 8(17), pp.11-18
- Prudent, D.** (2015). "Análisis del aceite esencial de orégano silvestre de Martinica *Coleus aromaticus* Benth: evaluación de sus propiedades bacteriostáticas y fungistáticas". *Journal of Essential Oil Research*, 3(7), pp.126-127

- Rios, J., Villar, A.** (2009). "Métodos de detección para productos antimicrobianos naturales con actividad antimicrobiana: una revisión de la literatura". *Revista de Etnofarmacología*, 6(23), pp.121-135
- Ruiz, C.** (2017). "Studio comparativo condotto da GC-MS su metaboliti volatili secondari dei chemotipi HBK di Lippia Origanoides ottenuti con diverse tecniche di estrazione". Universidad de Pereira, Scientin ETechnical, 8(33), pp.14-19.
- Remmal, A.** (2013). "Método mejorado para la determinación de la actividad antimicrobiana de aceites esenciales en medio de agar". *Revista de investigación de aceites esenciales*, 1(5), pp.121-134
- Saloma, A.** (2017). "La extracción supercrítica de especies naturales para la elaboración de aceites". *Revista Alimenticia Industrial*, pp.77-82.
- Sánchez, F.** (2015). "Planta piloto unidades de operaciones unitarias". Material didáctico y de práctica, Colombia, Bogotá, pp.66-69.
- Shelef, L.** (2013). "Crecimiento de bacterias entero-patógenas y de descomposición en caldos y alimentos que contienen salvia". *Revista de Ciencias en Alimentos*, 10(35), pp.71-82.
- Skandamis, P.** (2011). "Inhibición del aceite esencial de orégano y EDTA en Escherichia coli O157: H7". *Revista italiana de ciencias de los alimentos*, 10(13), pp.51-77
- Smith-Palmer, A.** (2014). "Propiedades antimicrobianas de aceites y esencias vegetales esenciales contra cinco importantes patógenos transmitidos por los alimentos.". *Letters in Food Microbiology*, 11(26), pp.93-104
- Stambuk, J.** (2016). "Manual práctico de cromatografía de gases". Práctica científica, Perkin Elmer Corporation, pp.81-87.
- Stashenko, E.** (2014). "Memorias en la extracción de aceites esenciales". Universidad de Industrialización Santander, pp.58-61.

- Svicery, A.** (2017). "Efectos de la fumigación de timol sobre la supervivencia y la ultraestructura de *Mollinia fructicola*". *Poscosecha Biología y Tecnología*, 1(45), pp.228-230.
- Tassou, C.** (2006). Inhibición de la flora microbiana residente y los inóculos de patógenos en filetes de pescado fresco frío en aceite de oliva, orégano y jugo de limón en atmósfera o aire modificado". *Revista de Protección de Alimentos*, 21(57), pp.29-32.
- Ultee, A.** (2002). "El grupo hidroxilo fenólico del carvacrol es esencial para la acción contra el patógeno alimentario *Bacillus cereus*". *Microbiología Aplicada y Ambiental*, 15(68), pp.326-332
- Usano, J.** (2014). "Oli essenziali: concetti di base e attività antibatterica". Artículo per la conservazione degli alimenti con olii essenziali. *BIOEDUCA*, 7(1), pp.23-26.
- Van Griensven, S.** (2016). "Aceites esenciales y oleorresinas: una encuesta en los Países Bajos y otros mercados importantes en la Unión Europea". *Centro de Promoción de Importaciones de Países en Desarrollo*, pp.92-115
- Wan, J.** (2013). "El efecto de los aceites esenciales de albahaca en el crecimiento de *Aeromonas hydrophila* y *Pseudomonas fluorescens*". *Revista de Microbiología Aplicada*, 9(10), pp. 120-122
- Wang, K.** (2007). "Efecto inhibitorio del aceite de clavo sobre *Listeria monocytogenes* en carne y queso". *Microbiología de Alimentos*, 18(3), pp.147-151
- Wendakoon, C.** (2013). "Efecto combinado de cloruro de sodio y clavo sobre el crecimiento y la formación de aminas biogénicas de *Enterobacter aerogenes* en extracto de caballa". *Revista de Protección de Alimentos*, 15(40), pp.214-218.

**Wimpenny, J.** (2017). “El crecimiento y la respiración de las colonias bacterianas”. *Revista de Microbiología General*, 10(27), pp.7-13.

**Worwood, V.** (2012). “El libro completo de aceites esenciales y aromaterapia: sobre recetas naturales, no tóxicas y fragantes para crear salud, belleza y un ambiente hogareño seguro”. Segunda Edición, Editorial McHall, pp.133-145.

**Yufera, M.** (2009). “Micropartículas alimenticias para pescado laval preparadas por gelificación interna”. *Proceso en acuicultura*, 10(50), pp.235-237.

## **ANEXOS**



## ANEXO A: Cepas requeridas de cada microorganismo

Microorganismo	Cepas requeridas
<i>Bacillus cereus</i>	SLRCC 1361
	ATCC 33018
<i>Vibrio vulnificus</i>	ATCC 43993
<i>Listeria monocytogenes</i>	SLRCC 518
	SLRCC 525
<i>Salmonella spp.</i>	SLRCC 1468
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 51811
	ATCC 13567
	ATCC 27664
	ATCC 13565
<i>Clostridium perfringens</i>	ATCC 51740
	SLRCC 1157

ATCC: Colección de Cultivo Tipo Americano – American Type Culture Collection

SLRCC: Colección de cultivos de investigación de Laboratorios Silliker – Silliker Laboratories Research Culture Collection

Nota: Cepas requeridas de cada microorganismo, adaptado de ICMSF (2019)

## Anexo B: Conservantes sintéticos en alimentos de Ecuador

Alimentos	Nitrito, Nitrato	SO <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> COOH	C <sub>3</sub> HCO <sub>2</sub>	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>	Parabenos
Grasas	(-)	(-)	(+)	(-)	(++)	(+)	(+)
Carnes	(++)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Vegetales	(-)	(+)	(++)	(-)	(++)	(++)	(-)
Bebidas	(-)	(+)	(-)	(-)	(++)	(++)	(+)
Vinos	(-)	(++)	(-)	(-)	(++)	(-)	(-)
Repostería	(-)	(-)	(-)	(-)	(++)	(+)	(-)

++: Usado frecuentemente

+: Usado ocasionalmente

(+): Utilizado solo en casos excepcionales

-: No utilizado

Nota: Conservantes que se utilizan con frecuencia junto con los principales grupos de alimentos en Ecuador, adaptado de Castro (2017)

## Anexo C: Rangos de pH para ciertos alimentos

Productos alimenticios	pH
<b>Lactosas:</b>	
Yogurt	3,8 a 4,2
<b>Carnes:</b>	
Res	5,0 a 6,0
Pescado Atún	5,0 a 6,0
<b>Vegetales y frutos:</b>	
Limas	1,8 a 2,0
Melones	6,3 a 6,7
Jugo de naranja	3,3 a 4,5
Sandía	5,3 a 5,7
Frijoles	4,6 a 6,5
Remolacha	4,2 a 4,4
Brócoli	6,5
Repollo de col	5,4 a 6,1
Cebolla roja	5,3 a 5,8
Perejil	5,7 a 6,0
Papas	5,3 a 5,6
Zapallo	4,8 a 5,2
Espinacas	5,5 a 6,0
Tomate	4,2 a 4,3
Nabo	5,2 a 5,5
Yemas de huevo	6,0 a 6,3

Nota: Rangos de pH de algunos alimentos comunes, adaptado de ICMSF (2019)

