

USO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS NATURALES EN LA CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS

NATURAL ANTIMICROBIAL AGENT USE IN THE PRESERVATION OF FRUITS AND VEGETABLES

Elvia Nereyda Rodríguez Saucedo

Egresada de la carrera de Ingeniería Bioquímica en Alimentos por el Instituto Tecnológico de Los Mochis. Correo electrónico: enrodriguez@gmail.com.

RESUMEN

En la actualidad ha surgido la necesidad de buscar alternativas de conservación, esto debido a que se ha asociado el consumo de conservadores químicos con intoxicaciones. La demanda de productos frescos mínimamente tratados está aumentando, así como el interés por los agentes antimicrobianos de origen natural (derivados de vegetales), por esto en la actualidad se busca la combinación de dos o más factores que interaccionen aditiva o sinérgicamente controlando a la población microbiana, permitiendo con esto productos semejantes al producto fresco pero con menos aditivos, cabe señalar que la velocidad de deterioro microbiológico no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de la combinación química del producto y del tipo de carga microbiana inicial. Es por ello que el principal objetivo del procesamiento de alimentos es proveer bienestar al ser humano por medio de alimentos seguros, nutricionalmente adecuados y cubrir las expectativas de sabor, aroma y apariencia, por lo cual el uso de aditivos alimentarios de origen natural implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos a los alimentos con fines antimicrobianos, sin que afecte negativamente a las características sensoriales. En general, cada vez se descubren más plantas o partes de estas que contienen antimicrobianos naturales, por ejemplo los que incluyen compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas, por lo que ya no solo tendremos mayor seguridad, sino mejor calidad de los alimentos ya que este tipo de antimicrobianos se consideran como fuentes potencialmente seguras.

Palabras clave: aditivos, alimentos, antimicrobianos naturales, conservación.

SUMMARY

Today has been a need to find alternatives of conservation, because it has been associated with consumption of poison chemical preservatives. The demand for minimally processed fresh products is increasing, and interest in natural antimicrobial agents (derived from plants), so now looking for the combination of two or more factors that interact additively or synergistically controlling population microbial, allowing it to fresh produce similar products with less additives, it should be noted that the rate of microbial spoilage depends not only on microorganisms but also the chemical combination of product and type of initial microbial load. That is why the main aim of food processing is to provide comfort to humans through a safe, nutritionally adequate and meet the expectations of taste, aroma and appearance, so the use of natural food additives involves the isolation, purification, stabilization

and incorporation of these compounds to food antimicrobial purposes, without adversely affecting the sensory characteristics. In general, every time we discover more plants or parts thereof which contain natural antimicrobials, such as including phenolic compounds from bark, stems, leaves, flowers, organic acids present in fruits and phytoalexins produced in plants, so as will not only safer, but better food quality and type of antimicrobials that are regarded as potentially safer sources.

Keywords: additives, food, natural antimicrobials, conservation.

INTRODUCCIÓN

Existe una tendencia mundial hacia un mayor consumo de frutas y hortalizas, motivado fundamentalmente por una creciente preocupación por una dieta más equilibrada, con menor proporción de carbohidratos, grasas y aceites y con una mayor participación de la fibra dietaria, vitaminas y minerales. Esto se fundamenta, en parte, en las menores necesidades calóricas de la vida moderna, caracterizadas por un mayor confort y sedentarismo. Sin embargo, la tendencia es cada vez consumir productos más frescos y sanos, y lo más parecido a su forma original. Esto debido a que se ha asociado el consumo de conservadores químicos con intoxicaciones, cáncer y otras enfermedades degenerativas, como son los benzoatos, nitritos y nitratos, anhídrido sulfuroso (SO₂), entre otros. Esto genera la necesidad de buscar alternativas de conservación que cubran las mismas propiedades antimicrobianas y compatibilidad con el alimento (Álvarez-Parrilla, 2005).

El uso de antimicrobianos (conservadores) es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente (que en algunos casos han causado daño en la salud de los consumidores, si se utilizan a grandes dosis o como en el caso de los sulfitos), redundando en un rechazo por parte de los consumidores de productos procesados, por lo cual ha surgido la necesidad de buscar

otras opciones. En esta búsqueda se han encontrado nuevos agentes antimicrobianos de origen natural, como sustitutos de los tradicionalmente utilizados (Nychas, 1995).

Algunos antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas, y especias. Lo más difícil es extraer, purificar, estabilizar e incorporar dicho antimicrobiano al alimento sin afectar su calidad sensorial y seguridad (Beuchat y Golden, 1989).

La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales, y se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos (Nychas, 1995).

Los antimicrobianos continúan estando entre los aditivos alimentarios más importantes. Actualmente, debido a la demanda por parte del consumidor de productos frescos mínimamente tratados como son las frutas frescas y frescas cortadas envasadas bajo diferentes atmósferas y refrigeradas, está aumentando el interés por los antimicrobianos de origen natural que puedan extraerse para ser utilizados con el fin de prolongar la vida útil y la seguridad para el consumidor (Blanchard, 2000).

La mayor parte de los antimicrobianos alimentarios solamente son bacteriostáticos (sistemas de conservación que impiden el desarrollo de gérmenes) o fungistáticos, en lugar de bactericidas (sistemas de conservación que destruyen los gérmenes) o fungicidas, por lo que su efectividad sobre los alimentos es limitada. Por otra parte, debido a que algunos microorganismos pueden no verse inhibidos o destruidos por las dosis convencionales de antimicrobianos utilizados individualmente, puede ser preferible utilizar una combinación de ellos, ampliando así el espectro de cobertura en la preservación de frutas o alimentos en general (Blanchard, 2000).

En este trabajo se realizó una revisión bibliográfica de la importancia del uso de los antimicrobianos naturales derivados de vegetales para la conservación de frutas, tales como: orégano, vainilla, ajo, extracto de

canela, pimienta negra, con el objetivo de conocer el poder antibacterial que puedan llegar a tener dichos compuestos, esto es debido a que el uso de conservadores químicos se ha venido relacionando con algunos tipos de intoxicaciones, además de que actualmente se emplean para alargar la vida de anaquel de los alimentos.

PRINCIPIOS DE CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

La preservación de alimentos puede definirse como el conjunto de tratamiento que prolonga la vida útil de aquellos, manteniendo, en el mayor grado posible, sus atributos de calidad, incluyendo color, textura, sabor y especialmente valor nutritivo. Esta definición involucra una amplia escala de conservación, desde períodos cortos, dados por métodos domésticos de cocción y almacenamiento en frío, hasta períodos muy prolongados, dados por procesos industriales estrictamente controlados como es el caso de la congelación y la deshidratación (Leistner, 1995).

Las tendencias actuales de los consumidores indican su preferencia por alimentos de fácil preparación, de calidad, seguros, y naturales, que estén poco procesados pero a la vez tengan una mayor vida útil. Las tecnologías de conservación de alimentos tienen como reto, obtener productos más duraderos sacrificando al mínimo sus características nutricionales y sensoriales iniciales (Del Valle, 2003).

Las condiciones de uso de los conservantes están reglamentadas estrictamente en todos los países del mundo. Usualmente existen límites a la cantidad que se puede añadir de un conservante y a la de conservantes totales. Los conservantes alimentarios, a las concentraciones autorizadas, no matan en general a los microorganismos, sino que solamente evitan su proliferación. Por lo tanto, solo son útiles con materias primas de buena calidad (Alvarez-Parrilla, 2005).

Conservadores en alimentos

Cuando adquirimos en el supermercado un alimento no procesado (fruta, verduras, hortalizas, etc.), es posible que dicho alimento pueda haber sufrido alguna contaminación de manera no intencional o contener algún aditivo. Dentro de los contaminantes no

intencionales se pueden encontrar componentes naturales del propio alimento, toxinas producidas por alguna bacteria, productos derivados del procesamiento del alimento y de la contaminación ambiental, contaminantes que resultan del manipuleo del alimento como pesticidas y fertilizantes entre otros. Por otro lado los aditivos se añaden de manera intencional para preservar y/o mejorar las características del alimento, algún ejemplo sería un conservador antimicrobiano natural. Los conservadores se adicionan con el propósito de controlar el crecimiento de microorganismos (bacterias y hongos) y pueden ser químicos y naturales (Barboza-Corona, et. al., 2004).

A pesar de que la mayor parte de los conservadores usados en alimentos son de origen químico, existen diversos productos de origen natural provenientes de plantas que pueden ser usados como conservadores de alimentos. Se estima que del 1% al 10% de la cerca de 500 000 especies de plantas que existen en el mundo tienen uso como alimento. (Barboza-Corona, et. al., 2004).

Muchas frutas contienen diferentes ácidos orgánicos, como el ácido benzoico o el ácido cítrico. Los ajos, cebollas y muchas especias contienen potentes agentes antimicrobianos, o precursores que se transforman en ellos al triturarlos (Matamoros, 1998).

Generalidades

La principal causa de deterioro de los alimentos es el ataque por diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos). El problema del deterioro microbiano de los alimentos tiene implicaciones económicas evidentes, tanto para los fabricantes (deterioro de materias primas y productos elaborados antes de su comercialización, pérdida de la imagen de marca, etc.) como para distribuidores y consumidores (deterioro de productos después de su adquisición y antes de su consumo) (Matamoros, 1998).

La calidad de los alimentos se encuentra afectada por factores físicos, químicos, bioquímicos, microbiológicos (Lueck, 1980), el control de dichos factores y en especial el microbiológico es esencial para la preservación de los alimentos. La aplicación de factores de

estrés microbiológico es de gran utilidad para lograr la inhibición y/o muerte microbiana (Boddy y Wimpenny, 1992). Los factores principales que afectan la sobrevivencia y el crecimiento microbiano se pueden clasificar de la siguiente forma (Mossel e Igram, 1995; Mossel, 1983; Alzamora, 1997):

- Factores implícitos y microbianos (microorganismos presentes, velocidades y fases lag de crecimiento, efectos sinérgicos, etc.).
- Factores intrínsecos, aquellos factores químicos y físicos que actúan dentro del alimento (nutrientes, pH, actividad de agua, presencia de conservadores y otras sustancias antimicrobianas, microestructura, etc.).
- Factores extrínsecos (temperatura, humedad relativa, presión parcial de oxígeno, etc.).

Los métodos de conservación tradicionales como congelación, pasterización, esterilización, deshidratación, están basados en la manipulación de uno o dos factores de conservación. En la actualidad, se busca la combinación de dos o más factores que interaccionen aditiva o sinérgicamente controlando a la población microbiana, evitando la aplicación de un solo factor de conservación en forma severa, lo que mejora la calidad sensorial y nutricional del alimento; permitiendo el procesamiento de productos semejantes al producto fresco, mas sanos, con menos aditivos y listos para preparar y servir (Alzamora, 1997). A esta combinación de factores se le ha denominado tecnología de obstáculos o factores combinados (Leistner y Rodel, 1976).

Se calcula que más del 20% de todos los alimentos producidos en el mundo se pierden por acción de los microorganismos. Por otra parte, los alimentos alterados pueden resultar muy perjudiciales para la salud del consumidor (Lueck, 1980).

La toxina botulínica, producida por una bacteria, *Clostridium botulinum*, en la conservación de frutas y hortalizas y en otros productos, es una de las sustancias más venenosas que se conocen (miles de veces más tóxica que el cianuro). Las aflatoxinas, sustancias producidas por el crecimiento de ciertos mohos, son potentes agentes cancerígenos. Existen razones poderosas para

evitar la alteración de los alimentos (Matamoros, 1998).

Los organismos oficiales correspondientes, a la hora de autorizar el uso de determinado aditivo, tienen en cuenta que éste sea un auxiliar del procesado correcto de los alimentos y no un agente para enmascarar unas condiciones de manipulación sanitaria o tecnológicamente deficientes, ni un sistema para defraudar al consumidor engañándole respecto a la frescura real de un alimento (Álvarez Parrilla, 2005).

ANTIMICROBIANOS ALIMENTARIOS

Efecto de la adición de antimicrobianos

Los antimicrobianos o conservadores pueden tener al menos tres tipos de acción sobre el microorganismo;

- Inhibición de la biosíntesis de los ácidos nucleicos o de la pared celular.
- Daño a la integridad de las membranas.
- Interferencia con la gran variedad de procesos metabólicos esenciales.

Consecuentemente algunos agentes antimicrobianos pueden afectar a muchos tipos de microorganismos, mientras que otros muestran un espectro de acción inhibitor mas reducido. Del mismo modo algunos antimicrobianos pueden ser directamente microbicidas, mientras que otros actúan como microbiostáticos. Con todo, este ultimo mecanismo también acarrea la muerte celular, excepto en el caso de las esporas de *Bacillaceae* (Mussel, 1983).

Agentes antimicrobianos

Con la evolución de la ciencia de alimentos han surgido muchos compuestos químicos con actividad antimicrobiana. El agente antimicrobiano del que se tiene el registro mas antiguo es la sal de mesa, la cual se sigue utilizando en la actualidad para conservar productos cárnicos. En el siglo XX se dieron grandes avances en la conservación de alimentos por medio de agentes químicos. Fue entonces cuando empezaron las revisiones de daños a la salud que cada agente podría causar (López, 2000).

Hoy en día la industria de alimentos utiliza en todo el mundo una gran cantidad de

antimicrobianos. Estos difieren según el país, ya que su uso esta restringido por las leyes alimentarias de cada nación. La producción de antimicrobianos genera una fuente de ingresos económicos importante a nivel mundial. Tan solo en los estados unidos en 1991 se consumieron 37.5 millones de kilogramos de conservadores, y esta cifra ha aumentado año con año desde entonces. Se estima que a nivel mundial, el consumo de antimicrobianos aumenta 4.1% anualmente, siendo los más utilizados los sorbatos, los propionatos y los benzoatos (Davidson, 1997).

La velocidad de deterioro microbiológico no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de la composición química del producto y del tipo de carga microbiana inicial. Los antimicrobianos son compuestos químicos añadidos o presentes en los alimentos que retardan el crecimiento microbiano o inactivan a los microorganismos y por lo tanto detienen el deterioro de la calidad y mantienen la seguridad del alimento (Davidson, 1997).

Muchos investigadores concuerdan en que la evaluación de aditivos para alimentos debe basarse en un balance entre los riesgos y beneficios, de esta manera en el futuro los aditivos benéficos, serán aquellos que tengan o cumplan con varias funciones en los alimentos a los cuales se añadan. La actividad antimicrobiana de estos aditivos se debe porque atacan la pared celular, membrana celular, enzimas metabólicas, la síntesis de proteína y el sistema génico. Cada uno de estos puntos, son esenciales para el desarrollo celular, por lo tanto si uno es atacado o inactivado la velocidad de crecimiento del microorganismo se ve minimizada (Davidson y Branen, 1993).

La mayoría de agentes antimicrobianos usados en alimentos solo inhiben el crecimiento de bacterias y hongos, más no eliminan su crecimiento, por lo que el producto tiene una vida de anaquel restringida, y es necesario el uso de otros factores de conservación que aumenten la vida media del producto. Algunos antimicrobianos sintetizados químicamente reconocidos como GRAS (generally recognized as safe) por la FDA (Food and Drug Administration) son los siguientes (Jay, 1991):

- Ácido propiónico y propionatos (mohos)
- Ácido sórbico y sorbatos (mohos)
- Ácido benzoico y benzoatos (mohos y levaduras)
- Parabenos (mohos y levaduras)
- Dióxido de azufre y sulfitos (mohos, levaduras y bacterias)
- Óxido de etileno y de propileno (mohos y levaduras)
- Diacetato de sodio (mohos y levaduras)
- Nisina (bacterias ácido lácticas, clostridios)
- Nitrito de sodio (clostridios)

Agentes antimicrobianos naturales

El principal objetivo del procesamiento de alimentos es proveer bienestar al ser humano por medio de alimentos seguros, nutricionalmente adecuados y cubrir las expectativas de sabor, aroma, apariencia y mayor comodidad. Es por esto el deseo de la sociedad moderna de consumir alimentos frescos, por lo que ha incrementado la popularidad de los alimentos “mínimamente o parcialmente procesados”. Este tipo de alimentos siguen los pasos mínimos de preparación, tratando de cambiar lo menos posible las cualidades de “alimento fresco” en la medida que sea posible, pero al mismo tiempo haciéndolo un alimento seguro y con una vida de anaquel suficiente para su transporte hasta el consumidor. (Alzamora, 1997). Otras tendencias del mercado de alimentos se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Tendencias de los consumidores que tienen impacto directo en la tecnología y conservación de alimentos, Welti (1997).

Tendencias actuales	Características
Convenientes y de alta calidad	Fáciles de almacenar con vida útil satisfactoria
De procesos menos severos	Calentamiento menos intenso y daño mínimo por congelación
Con menos aditivos artificiales	Uso de antimicrobianos naturales, timol, carvacrol, eugenol, etc.
Más frescos	Uso de congelación
Más saludables	Con menos grasas saturadas y menos cantidad de azúcares.

La mayoría de estas nuevas tendencias tienen implicaciones microbiológicas importantes dado que los cambios que tienen que realizarse conducen a que los factores de conservación sean aplicados de manera menos severa o en menor concentración. Por lo tanto la estabilidad y la seguridad de estos alimentos podrían verse disminuida en términos de vida útil de anaquel y en la producción de alimentos con mayor riesgo para la salud y cada vez más dependientes de una acertada formulación,

procesamiento, distribución y almacenamiento (Gould, 1996).

Muchos alimentos contienen compuestos naturales con actividad antimicrobiana. En estado natural, estos compuestos pueden desempeñar el papel de prolongadores de la vida útil de los alimentos. Incluso muchos de ellos han sido estudiados por su potencial como antimicrobianos alimentarios directos. El uso de aditivos alimentarios de origen natural implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos a los alimentos con fines antimicrobianos, sin que ello afecte negativamente a las características sensoriales, nutritivas y a su garantía sanitaria. Esto tiene que lograrse manteniendo los costos de formulación, procesamiento o comercialización. Los sistemas antimicrobianos naturales pueden clasificarse por su origen:

1. Origen animal, incluye proteínas, enzimas líticas tales como lisozima, hidrolasas tales como lipasas y proteasas (Beuchat, 2001) y polisacáridos como el quitosán (Davidson y Zivanovic, 2003).
2. Origen vegetal, incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Beuchat, 2001).
3. Origen microbiano, incluye compuestos producidos por microorganismos.

Día a día se está aumentando el uso en la Unión Europea de antimicrobianos naturales que refuerzan la seguridad en los alimentos y prolongan la vida útil de estos frente a las bacterias, hongos y virus. El apio, la almendra, el café y el arándano son antimicrobianos naturales que tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos (Beuchat, 2001).

Otro compuesto que servirá para sustituir al ácido sórbico en la conservación de los alimentos es la vainillina, un componente cristalino de la vaina de la vainilla, que se ha mostrado muy eficaz en frutas como la manzana, las fresas o el mango. En general, cada vez se descubren más plantas o partes de éstas que contienen antimicrobianos naturales, por lo que ya no solo tendremos mayor

seguridad, sino mejor calidad de los alimentos (Blanchard, 2000).

Los sistemas antimicrobianos naturales presentes en plantas, animales o microorganismos van ganando adeptos en el ámbito de la «conservación natural», sobre todo de las actividades antimicrobiana procedente de extractos de varios tipos de plantas y partes de plantas que se usan como agentes saborizantes en algunos alimentos. En países como Nigeria, por ejemplo, los extractos de especies con propiedades conservantes naturales son más utilizados que los antimicrobianos sintéticos. En la mayoría de los casos, los antimicrobianos se usan principalmente para inhibir el crecimiento de hongos y levaduras, y su acción depende en gran medida del pH. Cuanto más ácido es un alimento, más activo es contra los microorganismos (Ismaiel y Pierson, 1990).

Muchas hierbas y “especies” (cuadro 2) contienen aceites esenciales que son antimicrobianos: se menciona que cerca de 80 productos de origen vegetal contiene alto niveles de antimicrobianos con uso potencial en alimentos por ejemplo: clavo, ajo, cebolla, salvia, romero, cilantro, perejil, orégano, mostaza y vainilla entre otros (Ismaiel y Pierson, 1990).

Cuadro 2. Plantas utilizadas como saborizantes en alimentos y con actividad antimicrobiana (López, 1995).

Ajedrea	Cebollines	Jengibre	Pimienta de cayenne
Ajo	Cilantro	Laurel	Pimienta de jamaica
Albahaca	Clavo	Mejorana	Pimentón
Alcaravea	Comino	Menta	Romero
Anís	Cúrcuma	Mostaza	Salvia
Azafrán	Eneldo	Nuez moscada	Té limón
Canela	Estragón	Perejil	Tomillo
Cardamomo	Hinojo	Pimienta	Vainilla

La FDA, considera a los agentes antimicrobianos de origen natural, como sustancias del tipo GRAS, en el cuadro 3, figuran productos vegetales de los que se obtienen aceites esenciales, oleorresinas, y extractos naturales incluyendo a sus destilados para su uso como agentes antimicrobianos (Roberts, 1986).

Cuadro 3. Lista de FDA de especias, aromatizantes, y saborizantes naturales considerados GRAS (Hernández, 2003).

Ajo	Anís	Cardamomo	Hinojo	Nuez moscada
Ajonjolí	Apio	Cebolla	Jengibre	Orégano
Albahaca	Azafrán	Cilantro	Manzanilla	Perejil
Alcaparra	Caléndula	Clavo	Mejorana	Pimienta
Alfalfa	Canela	Gliciriza	Mostaza	Vainilla

Modo de acción de los agentes antimicrobianos

El modo de acción de éstos compuestos fenólicos no ha sido determinado, éstos pueden inactivar enzimas esenciales, reaccionar con la membrana celular o alterar la función del material genético y se ha observado que las grasas, proteínas, concentraciones de sal, pH y temperatura afecta la actividad antimicrobiana de estos compuestos. Los componentes activos de los aceites esenciales pueden variar en su composición, ya que ésta puede verse afectada por ciertas variables como el genotipo de la planta, las diferentes metodologías de extracción, localización geográfica, así como las condiciones ambientales y agronómicas (Smid y Gorris, 1999).

El mecanismo de ataque de los antimicrobianos dentro de una célula se lleva a cabo en partes y/o funciones importantes para la sobrevivencia de la célula. Puede llevarse a cabo en la pared celular, membrana celular, en la síntesis de proteína, en su genética y en la síntesis de su genética. Esto puede causar daños irreparables a una célula. De varios de los antimicrobianos no se conoce aún su modo de acción, pero al actuar de forma diferente, las combinaciones de estos pueden llevar a mejores resultados (Davidson y Branen, 1993).

Existen pocos estudios enfocados a comprender el mecanismo involucrado en la inhibición microbiana por especias y sus aceites esenciales. Sin embargo, se supone que dada la estructura fenólica de muchos de los compuestos con actividad antimicrobiana presentes en las especias y sus aceites esenciales, el modo de acción debe ser similar al de otros compuestos fenólicos (Davidson, 1997).

En muchos casos los antimicrobianos pueden no tener ningún efecto hasta que se rebasa una concentración crítica. Juven et al., (1994) utilizaron extractos de tomillo a diferentes

concentraciones para tratar de inhibir *Salmonella typhimurium*, y encontraron que había una concentración crítica donde el extracto tenía efecto, y a concentraciones menores no había actividad antimicrobiana. La interpretación de estos investigadores a este fenómeno fue que los compuestos fenólicos sensibilizan la membrana celular, y al saturarse los sitios de acción, la célula sufre un daño grave, provocando que se colapse la membrana (Raibaudi, et, al., 2006).

CLASES DE ANTIMICROBIANOS NATURALES

Ácidos orgánicos y ésteres

Uno de los factores que gobierna el crecimiento de los microorganismos en los alimentos es el pH. En general las bacterias crecen a pH cercanos a la neutralidad (pH 6.5 a 7.5) pero sin embargo son capaces de tolerar un rango de pH entre 4 y 9. A diferencia de éstas, los mohos y las levaduras toleran un rango más amplio de pH para su crecimiento, ya que pueden crecer a pH por debajo de 3.5.

Las levaduras y mohos deteriorativos proliferan más comúnmente en frutas y vegetales debido a sus características inherentes como su bajo pH y baja capacidad reguladora (Doores, 1993).

El modo de acción de los ácidos orgánicos en la inhibición del crecimiento microbiano parece estar relacionado con el mantenimiento del equilibrio ácido-base, la donación de protones y la producción de energía por las células. Los sistemas biológicos y químicos dependen de la interacción entre los sistemas ácido-base. La célula microbiana normalmente refleja este equilibrio atendiendo al mantenimiento de un pH interno cercano a la neutralidad. La homeostasis es la tendencia de una célula a sostener un equilibrio químico a pesar de las fluctuaciones en el ambiente. Este balance se mantiene por medio de la interacción de una serie de mecanismos químicos, causando su alteración la destrucción de las células microbianas. Las proteínas, los ácidos nucleicos y fosfolípidos pueden ser alterados estructuralmente por los cambios de pH (Doores, 1993).

Espicias y hierbas

Muchas especias y hierbas exhiben actividad antimicrobiana; entre las usadas en alimentos se encuentran por ejemplo el apio, cilantro, laurel, almendra, albahaca, café, angélica, puerro, rábano picante, hierbabuena, tomillo, etc. Los compuestos presentes en especias y hierbas que tienen actividad antimicrobiana son derivados simples y complejos del fenol, los cuales son volátiles a temperatura ambiente. Las especias son raíces, cortezas, semillas, brotes, hojas o frutos de plantas aromáticas que se añaden a los alimentos como agentes saborizantes. Sin embargo, se sabe desde tiempos antiguos que las especias y sus aceites esenciales tienen diferentes grados de actividad antimicrobiana. El primer reporte del uso de las especias como conservadores se remonta a unos 1,550 años a.c., cuando los antiguos egipcios las empleaban para conservar alimentos y embalsamar a los muertos (Davidson, 2001).

Ciertas especias inhiben el crecimiento de microorganismos. En general son más efectivos las especias frente a organismos gram-positivos, que frente a bacterias gram-negativas:

- Canela, clavo y mostaza: gran poder conservante.
- Pimienta negra/roja, jengibre: inhibidores débiles frente a una gran variedad de microorganismos.
- Pimienta, laurel, cilantro, comino, orégano, romero, salvia y tomillo: actividad intermedia.
- Otros: anís, menta, hinojo, apio, eneldo, cúrcuma.

La función conservadora se debe a los aceites esenciales que poseen, en cuya composición poseen compuestos tipo eugenol o aldehído cinámico con poder antimicrobiano. También presentan actividad antimicrobiana las oleorresinas de estas especias (Petrone, 2002).

Desventaja del uso de especias y hierbas como antimicrobianos

Muchas hierbas y especias han sido reportadas por poseer propiedades antimicrobianas. Sin embargo existe una gran desventaja en su uso como antimicrobiano: una alta concentración es necesaria para obtener un efecto de preservación y por lo tanto, existen alteraciones en el sabor. Por lo tanto el uso de

hierbas como agentes antimicrobianos esta limitada a los alimentos en los cuales el cambio en el sabor es considerado deseado (Shaaya, 1994).

Oleorresinas

Las oleorresinas se producen mediante la extracción de los compuestos aromáticos de las especias deshidratadas con solventes orgánicos. Los compuestos volátiles y no volátiles extraídos de las especias, representan el sabor completo de la especia fresca en una forma concentrada. Por esta razón, las oleorresinas son el extracto de especias preferido para saborizar productos y son:

*Pimienta negra	*Cápsica	*Cardamomo	*Cassia
*Semilla de apio	*Capullo de clavo	*Semilla de cilantro	*Semilla de comino
*Curry	*Semilla de Hinojo	*Fenugreek	*Jengibre rojo
*Ajo	*Jengibre	*Enebro	*Lemon grass, hierbas cítricas
*Nuez Moscada	*Resinoide olibanum	*Cebolla	*Semilla de perejil

Ventajas de las oleorresinas:

Natural: Es un producto 100% natural libre de residuos de solvente y de residuos de pesticidas.

- Esterilidad: no presentan contaminación microbiana
- Las oleorresinas cumplen con las especificaciones de la FDA y están clasificadas como GRAS (Generally Recognized as Safe), lo que permite su libre adición dentro de las formulaciones (Eliopoulos, 1991).

Cabe señalar que los aceites esenciales de los cítricos (naranja, limón) son inhibidores del desarrollo de *Aspergillus flavus*, eliminando la producción de aflatoxina. Los extractos de ajo y cebolla inhiben el desarrollo de levaduras y son también antibacterianos. Los rábanos, plátano, batata, berza contienen también sustancias antimicrobianas. Todas estas posibilidades adolecen de la misma limitación: el poder conservante muestra un espectro activo muy estrecho, es decir, sólo son activos frente a determinados microorganismos y la cantidad de principio activo en la especia es tan pequeño que resulta tremendamente caro aislarlo y purificarlo para su preparación comercial (Katayama, 1960).

Muchas partes de plantas y sus extractos usados como especias y hierbas han mostrado efectos antimicrobianos contra bacterias y hongos (cuadro 4). Dentro de las bacterias patogénicas afectadas por un amplio rango de compuestos presentes en esos condimentos se incluyen: *Clostridium botulinum*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* (Burt, 2004).

El crecimiento de mohos micotoxigénicos, como *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *A. ochraceus*, *Penicillium urticae*, y *Penicillium roquefortii* es retardado o inhibido, así como también el de mohos, levaduras y bacterias causantes del deterioro de alimentos (Beuchat, 2001).

Estudios con extractos de hojas de *Ginkgo biloba* han demostrado su efecto antimicrobiano contra *Listeria monocytogenes*. Xie y col., (2003) observaron que los extractos de las hojas de esta planta redujeron los niveles de la población de *L. monocytogenes* y que este efecto se hizo más pronunciado a bajas temperaturas (4°C). Además demostraron que la adición de EDTA (1.6 mg/ml) aumentó la actividad antimicrobiana (figura 1).

Aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos aceitosos obtenidos a partir de diferentes partes de las plantas como flores, yemas, semillas, hojas, ramas, corteza, hierbas, madera, frutos y raíces. Son mezclas complejas de ésteres, aldehídos, cetonas y terpenos. Además son compuestos olorosos, muy solubles en alcohol y poco solubles en agua. Para la extracción de estos compuestos se pueden utilizar distintos solventes (acetato, etanol, y cloruro de etileno). Los aceites esenciales derivados de plantas son conocidos por su actividad antimicrobiana contra un amplio rango de bacterias y hongos (Bullerman, 1997).

Son relativamente pocos los estudios sobre la actividad antimicrobiana de aceites esenciales en sistemas modelo de alimentos o en alimentos propiamente dichos. Sin embargo, en los estudios realizados se ha logrado ver que la eficacia de los aceites esenciales “in vitro” es frecuentemente mucho mayor que en los alimentos (Nychas, et. al., 2003).

Cuadro 4. Concentraciones mínimas inhibitorias de aceites esenciales probados “in vitro” contra microorganismos patógenos transmitidos por alimentos (Burt, 2004).

Planta de la cual se deriva el EO	Especie bacteriana	CMI rango aproximado(ul/ml)
Romero	<i>Escherichia coli</i>	4.5 - > 10
	<i>Salmonella typhimurium</i>	> 20
	<i>Bacillus cereus</i>	0.2
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.4 10
	<i>Listeria monocytogenes</i>	0.2
Oregano	<i>E. coli</i>	0.5 1.2
	<i>S. typhimurium</i>	1.2
	<i>S. aureus</i>	0.5 1.2
	<i>E. coli</i>	0.6
	<i>S. typhimurium</i>	2.5
	<i>S. aureus</i>	0.6
	<i>E. coli</i>	3.5 5
	<i>S. typhimurium</i>	10 20
	<i>S. aureus</i>	0.75 10
	<i>L. monocytogenes</i>	0.2
	<i>E. coli</i>	0.4 2.5
	<i>S. typhimurium</i>	> 20
	<i>S. aureus</i>	0.4 2.5
	<i>L. monocytogenes</i>	0.3
	<i>E. coli</i>	0.45 1.25
	<i>S. typhimurium</i>	0.450- > 20
	<i>S. aureus</i>	0.2 2.5
	<i>L. monocytogenes</i>	0.156 0.45
	<i>E. coli</i>	> 0.2
	<i>B. cereus</i>	0.2
	<i>E. coli</i>	2.5 - > 80
	<i>Shigella dysenteria</i>	5 - > 80
	<i>S. aureus</i>	0.6 40
	<i>B. cereus</i>	5 10

CMI = Concentración mínima inhibitoria

En frutas específicamente (cuadro 5), Roller y Seedhar (2002) estudiaron el efecto de diferentes aceites esenciales sobre la extensión de la fase de latencia de crecimiento y la reducción en el nivel de la población final de la flora naturalmente presente en melón y kiwi.

La aplicación de aceites esenciales de mandarina, cidra, limón y lima, aumentaron la vida útil de ensalada de frutas y redujeron la carga microbiana, sin alterar las características sensoriales del producto (Lanciotti, et. al., 2004).

Cuadro 5. Antimicrobianos utilizados en sistemas modelos a base de frutas (Raibaudi, et. al., 2006).

Antimicrobiano	Sustrato	Efecto	CMI (ppm)/CU	Referencia
Vainillina	Sistemas modelo de agar a base de frutas	Inhibición del la tasa de crecimiento radial de colonias de especies de <i>Aspergillus</i>	1000-2000	López, et. al., 1995.
Eugenol, timol, mentol y eucaliptol	Cerezas	Inhibición del crecimiento de bacterias aerobias mesófilas, mohos y levaduras	/1 ml en forma de vapor (aplicado en gasas humedecidas con el aceite esencial)	Serrano, et. al., 2005.
Carvacrol y ácido Cinnámico	Melón fresco cortado y kiwi	Reducción de los recuentos de microorganismos viables en kiwi y extensión de la fase lag de la flora microbiana natural en melón	1mM	Roller y Seedhar, 2002
Aceite de mandarina, sidra, limón y lima	Ensalada de frutas	Aumento de la vida de anaquel y reducción del crecimiento microbiano		Lanciotti, et. al., 2004
Metil Jasmonato	Guayaba	Incremento de la tolerancia contra el ataque de patógenos		González, et. al., 2004.
Metil Jasmonato y etanol	Fresa fresca	Deterioro del deterioro fúngico y aumento de la capacidad antioxidante		Ayala, et. al., 2005.
Hexanal	Manzanas frescas cortadas	Inhibición del crecimiento de bacterias aerobias mesófilas, psicrofilas, mohos y levaduras	/0.15 mmol/100g	Lanciotti, et. al., 1999.
Hexanal y trans-2-hexenal	Manzanas frescas cortadas	Extensión de la vida útil de la fruta por inhibición del crecimiento de la flora nativa y prolongación de la fase lag de levaduras inoculadas	/diferentes concentraciones fueron evaluadas.	Corbo, et. al., 2000.
Hexanal, (E)-2-hexenal y hexil acetato	Manzanas frescas cortadas	Efecto bactericida contra <i>L. monocytogenes</i> y extensión de fase lag de <i>E. coli</i> , y <i>S. Enteritidis</i>	/150, 150 y 20 de hexanal, hexil acetato y (E)-2-hexenal respectivamente	Lanciotti, et. al., 2003.
Vapores de ácido acético glacial, peróxido de hidrogeno y dióxido de cloro	Manzanas enteras	Reducción de la población de <i>E. coli</i> inoculada en 3.5 log ufc/g usando ácido acético en vapor, reducciones 2log usando soluciones de peróxido de hidrógeno o dióxido de cloro y reducción de 4,5 log usando dióxido de cloro en forma gaseosa	/Varías	Sapers, et. al., 2003.
Vapores de ácido acético	Uva de mesa	Reducción de hasta 94% del deterioro		Ayala, et. al., 2005.
Peróxido de hidrógeno como solución de lavado	Manzanas enteras	Reducción de la población de <i>E. coli</i>	/H2O2(5%)	Sapers, et. al., 2002.
Peróxido de hidrógeno como solución de lavado	Melón entero y cortado	Reducción de la población de <i>Salmonella</i> spp. Inoculada en melones enteros	/H2O2(2.5% y 5%)	Ukuku, 2004.
Peróxido de hidrógeno, nisina, lactato de sodio y ácido cítrico aplicados como soluciones de lavado	Melón entero y cortado	Reducción en la transferencia de <i>E. coli</i> O157:H7 y <i>L. monocytogenes</i> del fruto entero al fruto picado	/ H2O2 (2.5%) o una mezcla de H2O2 (1%) + nisina (25 g/ml) + lactato de sodio (1%) + ácido cítrico (0.5%)	Ukuku, et. al., 2005.

CMI: Concentración mínima inhibitoria. CU: Concentración utilizada

Los constituyentes activos de estos aceites son normalmente compuestos volátiles, hidrofóbicos y muy lábiles. Por lo tanto, debido a las características de estos compuestos, son buenos candidatos para ser encapsulados en ciclodextrinas (CDs).

Se han realizado diversos estudios sobre las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales. De los más estudiados encontramos los extractos del orégano, tomillo, romero, cilantro, cebolla y ajo. La efectividad de tales aceites se ha visto confirmada inhibiendo el

crecimiento de diversos hongos y bacterias (Nychas, 1995).

Ajo

El ajo, es una planta comúnmente utilizada como agente saborizante y condimento en los alimentos. El ajo (*Allium savitum*), pertenece a la familia de las *liláceas* junto con la cebolla, el puerro y el tulipán. Es probablemente el alimento con potencial antimicrobiano mas consumido. Las propiedades medicinales del ajo, han sido estudiadas desde hace siglos. Sin embargo, es hasta los años cuarentas, que

aparece evidencia científica de sus propiedades antimicrobianas: Cavallito y Bailey en 1994, fueron los primeros en aislar el componente antimicrobiano del ajo a partir de bulbos frescos, utilizando destilación por arrastre con vapor. Identificaron al compuesto obtenido como *alicina* o *ácido dialiltiosulfónico*. Este compuesto, se describe como un aceite altamente aromático, incoloro y el responsable del olor característico en el ajo y la cebolla. En concentraciones de 1:85,000 en pruebas de laboratorio, la *alicina* se muestra como bactericida con un amplio espectro para microorganismos Gram positivos y Gram negativos (Beuchat y Golden, 1989).

En los tejidos frescos de ajo, se encuentra la *alinala* (S- alil-L- cisterna-S-óxido), la cual por medio de hidrólisis se convierte en *alicina*, *piruvato* y *amonio*. El mecanismo de la actividad antimicrobiana del ajo, se basa en la inhibición de la actividad de enzimas como: *fosfatasa alcalina*, *invertasa*, *ureasa* y *papaína*, así como de enzimas *sulfihidricas*. La *alicina* inhibe la actividad de enzimas *sulfihidricas* debido a la presencia de los grupos químicos S-O-S.

La mayoría de estas enzimas son inhibidas a concentraciones 0.0005 molar de *alicina*. Esto incluye a *ureasa*, *papaína*, *colina esterase*, *hexocinasa*, *trisafofosfatodeshidrogenasa*, *carboxilasas*, *adenosin trifosfato* y *beta amilasa*. Igualmente, muestra inhibición para enzimas no *sulfihidricas* como *lactodeshidrogenasa*, *tirosinasa*, *fosfatasa alcalina*. Muchos de los trabajos realizados sobre la actividad antimicrobiana del ajo, hacen referencia a su acción sobre bacterias patógenas, mohos micotoxigenicos y microorganismos deteriorativos. Organismos que tienen en común las enzimas *sulfihidricas* (Davidson y Parish, 1989).

Como se mencionó anteriormente, se ha reportado también su eficacia para bacterias Gram positivas: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomona*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*. Puede prevenir el crecimiento de *S. aureus*, *B. cereus*; con una eficacia comparada con la de la *ampicilina* a diferentes concentraciones. Aunque resulta ineficaz para *C. botulinum* (Davidson y Parish, 1989).

Orégano

Existen múltiples estudios sobre la actividad antimicrobiana de los extractos de diferentes tipos de orégano. Se ha encontrado que los aceites esenciales de las especies del género *Origanum* presentan actividad contra bacterias gram negativas como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Yersinia enterocolitica* y *Enterobacter cloacae*; y las gram positivas como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes* y *Bacillus subtilis* (Aligiannis, 2001). Tienen además capacidad antifúngica contra *Cándida albicans*, *C.tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, *Aspergillus Níger*, *Geotrichum* y *Rhodotorula*; pero no contra *Pseudomona aeruginosa*. Se ha evaluado la actividad antimicrobiana de los componentes aislados, así como el del aceite esencial. Los fenoles *carvacrol* y *timol* poseen los niveles más altos de actividad contra microorganismos gram negativos, excepto para *P. aeruginosa*, siendo el *timol* más activo (Sivropoulou, 1996). Otros compuestos, como el *g-terpineno* y *r-cimeno* no mostraron actividad contra las bacterias estudiadas. Los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para los aceites esenciales se han establecido entre 0.28-1.27 mg/mL para bacterias, y de 0.65-1.27 mg/mL para hongos (Aligiannis, 2001).

En el caso de *E.coli* O157:H7 existe una relación concentración/efecto a 625 ml/L con actividad bactericida después de 1 minuto de exposición al aceite, mientras que después de 5 minutos se requirieron 156 y 312 ml/L. Dicha acción antimicrobiana posiblemente se debe al efecto sobre los *fosfolípidos* de la capa externa de la membrana celular bacteriana, provocando cambios en la composición de los ácidos grasos. Se ha informado que las células que crecen en concentraciones subletales de *carvacrol*, sintetizan dos *fosfolípidos* adicionales y omiten uno de los *fosfolípidos* originales (Burt, 2003).

El extracto etanólico de una línea clonal de orégano inhibió la acción de *Listeria monocytogenes* en caldo y otros productos de carne. También se ha encontrado que el aceite esencial de orégano es muy valioso en la inhibición de *E. coli* O157:H7. Otros microorganismos como *Acinetobacter baumannii*, *Aeromonas veronii biogroup sobria*,

Candida albicans, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype *typhimurium*, *Serratia marcescens* and *Staphylococcus aureus*, se han logrado inhibir gracias a la presencia de extractos de orégano (2% v/v) (Hammer, 1999).

Pimienta negra

De la pimienta se sabe que es la reina de las especias, por fortuna se encuentra en casi todas las cocinas del mundo, pues además de su poder en la cocina, consumida moderadamente tiene poderes digestivos, le otorgan poderes antioxidantes y anticancerígenos gracias a sus aceites esenciales, así como cierta actividad antibacteriana. Un nuevo estudio realizado por el Departamento de Ciencias del Núcleo de la Universidad de Oriente de Monagas, que ha contado con la colaboración del Programa de Tecnología de Alimentos de la Escuela de Zootecnia de ese Núcleo de la UDO, lo reafirma y revela que los extractos etanólicos, clorofórmico y acuoso de la pimienta negra actúa como antimicrobiano contra bacterias Gram Positivas y Gram Negativas, especialmente contra *Escherichia coli* y *Proteus*, pero también inhiben la acción del estafilococo dorado y una cepa de *Salmonella*. Para medir el efecto antimicrobiano utilizaron la técnica de siembra masiva sobre placas de agar nutritivo con diferentes tipos de bacterias que pueden provocar enfermedades. Ahora los científicos estudian si la pimienta blanca, la verde o la roja ofrecen los mismos efectos. Aderezar nuestros platos con pimienta negra, sobre todo poco o nada cocinada, puede estar librándonos de contraer enfermedades que nos aportaría la misma alimentación, pues hay productos que tienen una carga microbiológica alta (Fernandez, 2007).

Compuestos fenólicos

Compuestos fenólicos tales como los ácidos cafeico, clorogénico, p-coumárico, ferúlico y químico están presentes en partes de plantas que son usadas como especias. La actividad antimicrobiana de esos y otros ácidos como hidroxicinámico y cinámico pueden retardar la invasión microbiana así como también la putrefacción de frutas y vegetales. Bacterias Gram- positivas y Gram-negativas, mohos y levaduras comúnmente encontradas como organismos deteriorativos son sensibles a los

derivados del ácido hidroxicinámico. Los ácidos cafeico, ferúlico y p-coumárico, por ejemplo, inhiben *E. coli*, *S. aureus* y *B. cereus*. Otros compuestos fenólicos que han demostrado tener actividad antimicrobiana son los taninos y el ácido tánico. Este último por ejemplo es inhibitorio para *L.monocytogenes*, *E. coli*, *S. Enteritidis*, *S. aureus*, *A.hydrophila* y *S. faecalis* (Beuchat, 2001).

Compuestos fenólicos como los flavonoles, típicamente presentes en frutas y en el té verde, tienen actividad antibacteriana. Así, Puupponen y col. (2001) demostraron que myricetin, utilizado como compuesto químico puro, inhibió el crecimiento de bacterias ácido lácticas derivadas de la flora del tracto gastrointestinal de humanos, pero no afectó al crecimiento de *Salmonella*, mientras que extractos preparados directamente a partir de fresas, frambuesas y otras fueron fuertes inhibidores de *Salmonella* y *E. coli* (Raibaudi, et. al., 2006).

Extracto de canela

El aldehído cinámico es un compuesto fenólico de algunas especies, incluyendo la canela, es generalmente admitido como seguro para su uso en alimentos y es usado en muchos alimentos como saborizante (Petrone, 2002).

El aldehído cinámico (3- fenil-2 propenal) es el principal componente antimicrobiano en la canela, no solo exhibe actividad antibacterial sino que también inhibe el crecimiento de mohos y la producción de micotoxinas, Hitokoto et al., (1978) reportan que la canela tiene un fuerte efecto inhibitorio en mohos, incluyendo *Aspergillus parasiticus*, Bullerman (1974) también observa un efecto inhibitorio de la canela en *Aspergillus parasiticus*, reporta que de 1 a 2% de concentración de canela puede permitir algún crecimiento de *Aspergillus parasiticus*, pero también puede disminuir la producción de aflatoxinas en un 99%.

Aplicaciones del aldehído cinámico

Los japoneses reportaron el uso de aldehído cinámico como un agente antimicrobiano en pasta de pescado. Estudios hechos por Lock y Borrad, en la universidad de Bath en el Reino Unido sobre las propiedades antimicrobianas del ácido cinámico en el laboratorio, han demostrado que el aldehído cinámico es

particularmente efectivo contra mohos y levaduras a pH ácidos. Los investigadores de Bath encontraron que el aldehído cinámico usado para sumergir o rociar, extiende la vida de anaquel de duraznos, peras, manzanas, chabacanos y nectarinas enteras, así como rebanadas de tomate, mango, melón, manzana, sandía, limón y kiwi. Sin embargo el tratamiento de algunas frutas con altas concentraciones de ácido cinámico causaron oscurecimiento en nectarinas, limas y peras (Roller, 1995).

Se ha reportado que el aldehído cinámico contiene un antimicótico natural, inhibiendo la producción de aflatoxinas (Hitokoto, 1978), el ácido cinámico y los derivados del aldehído cinámico provienen de plantas y frutas, y son formados como una protección natural contra infecciones y microorganismos patógenos (Mazza, et. al., 1993; Davidson, 1997).

El aldehído cinámico fue muy efectivo para prolongar la vida de anaquel de algunos productos de frutos importantes. Por ejemplo la vida de anaquel de rebanadas de tomate fresco almacenado a 4°C fue extendida de 42 a 70 días mientras que las rebanadas almacenadas a 25 °C tuvieron el doble de vida de anaquel de 21 a 42 días (Roller, 1995).

Se ha observado que las concentraciones en que se requieren los antimicrobianos naturales son más altas en alimentos que en medios de cultivo, dañando significativamente el sabor de los alimentos, por lo que su efectividad puede reforzarse por el uso de aditivos o combinaciones sinérgicas con otros compuestos, reduciendo así las concentraciones necesarias para lograr la eficacia deseada (Gould, 1996).

Aldehídos y derivados

Algunos aldehídos como el hexanal y su derivado trans-2-hexanal, que son moléculas naturalmente presentes en manzanas (compuestos volátiles característicos del aroma) han mostrado tener efectos antimicrobianos al aplicarlos en manzanas frescas, logrando aumentar su vida útil (Lanciotti, et. al., 1999; Corbo, et. al., 2000).

Polisacáridos

Recientemente se ha investigado el efecto inhibitorio de polisacáridos como el quitosán

(heteropolisacárido) que es un derivado deacetilado de la quitina, la cual es uno de los polímeros más abundantes en la naturaleza, encontrándose en organismos como crustáceos, insectos y hongos. Su efectividad como antimicrobiano fue investigada por Sebtí y col., (2005) sobre *Aspergillus niger*, encontrando que una película con quitosán al 0.1% (p/v) inhibió totalmente el crecimiento del moho en placas de agar sabouraud (Fernández, 2007).

Debido a que el uso de sustancias antimicrobianas en frutas frescas cortadas en concentraciones suficientes para inhibir o eliminar los microorganismos deteriorativos o patógenos, puede ejercer una fuerte influencia sobre las características sensoriales del producto, se piensa que una combinación de antimicrobianos o de métodos de conservación como por ejemplo, el uso de temperaturas (Fernández, 2007).

Eficacia de los agentes antimicrobianos

Para la aplicación de los antimicrobianos de origen natural, se necesita comprobar su eficacia “in vitro”, en medios microbiológicos y en productos alimenticios. Las pruebas “in vitro” proporcionan información valiosa acerca de la efectividad de un compuesto, y pueden ser evaluados de igual manera, las variables que afectan a la actividad antimicrobiana, de la cual depende del tipo, género, especie y microorganismo a probar. Por ejemplo las esporas bacterianas son más resistentes al efecto de los antimicrobianos que las células vegetales. También el tipo de pared celular es un factor a considerar. Una variable asociada a la efectividad de un agente antimicrobiano en los alimentos, es el número inicial de los microorganismos en el sistema. Debido a que la mayoría de los antimicrobianos son bacteriostáticos más que bactericidas. Los agentes antimicrobianos de origen vegetal no contribuyen al desarrollo de cadenas de resistencia o alteran el ambiente del alimento de manera que crezcan otros organismos patógenos (Zaika, 1998).

Existe un numero importante de reportes acerca de la actividad antimicrobiana de extractos, aceites, especias y condimentos, es difícil obtener estimaciones cuantitativas y hacer comparaciones de sus efectos debido, al menos parcialmente, a la gran variedad de

métodos que se han utilizado para evaluar su efectividad (Zaika, 1998).

Algunos factores intrínsecos y extrínsecos o variables asociados a la aplicación de los agentes antimicrobianos a los alimentos se determinan en las pruebas “in vitro”. Estas incluyen temperatura, atmósfera, pH, potencial de oxido-reducción y actividad de agua. Para el éxito de estas pruebas, se requiere que estos factores sean controlados, donde uno de estos, es el microorganismo en si. Las variaciones de la preparación del antimicrobiano se debe a la pureza del disolvente utilizado así como del método de esterilización (por ejemplo calor, filtración por membrana). El tiempo de exposición debe ser cuidadosamente controlado para establecer resultados significativos.

El número inicial de microorganismos debe ser consistente para obtener resultados reproducibles. El efecto de la temperatura es muy importante durante la incubación y la exposición. En la mayoría de los casos, el incremento de la temperatura de la exposición incrementa la actividad de antimicrobiano. La temperatura de incubación debe ser la óptima para el microorganismo a probar. La composición de la atmosfera, juega un rol muy importante, es necesario definir si el microorganismo es anaerobio o no. La actividad de los antimicrobianos se ve afectada de igual manera por el pH, generalmente la actividad antimicrobiana de los ácidos orgánicos se atribuye principalmente a su forma no disociada (Beuchat y Golden, 1989).

Estas pruebas demuestran los problemas potenciales que se pueden encontrar en los sistemas alimenticios. Para el éxito de dichas pruebas, es necesario que las propiedades del agente antimicrobiano, se especifiquen dentro de un esquema de aplicación para conocer los propósitos del mismo (Beuchat y Golden, 1989).

Métodos de prueba para la eficacia de los agentes antimicrobianos

Los métodos que se utilizan para evaluar la actividad de los antimicrobianos, se pueden dividir en: pruebas “in vitro” y pruebas de aplicación. Estas últimas, también se conocen como “métodos de barrido” y pueden incluir

cualquier prueba en la que el compuesto no se aplica de manera directa al sistema alimenticio; generalmente, este tipo de pruebas, proveen información preeliminar para determinar la eficacia del compuesto. Las pruebas “in vitro”, incluyen pruebas en las que el agente antimicrobiano se aplica directamente al producto (Raibaudi, et. al., 2006).

Davidson y Parish (1989) mencionan que para la aplicación de cualquiera de éstos métodos deben controlarse los demás factores que puedan intervenir en la respuesta del microorganismo (temperatura, pH, actividad de agua, nutrientes) y señalan que uno de los factores es el propio microorganismo, es decir depende del tipo, género, especie y cepa del organismo en prueba. El número inicial de células o esporas utilizadas durante los ensayos con el antimicrobiano debe ser consistente para asegurar que los resultados son reproducibles. En el caso de los antimicrobianos naturales Zaika (1988) señala que el medio en que se prueba su eficacia, la especie, aceite o extracto a evaluar y el microorganismo afectan significativamente los resultados de las pruebas.

En el cuadro 6 se muestra la clasificación de los métodos más utilizados para evaluar la eficacia de los compuestos antimicrobianos en los alimentos.

Cuadro 6. Métodos para evaluar la eficacia de los antimicrobianos naturales (Davidson y Parish, 1989).

-
- **Métodos de evaluación de punto final**
 - o Difusión en agar
 - o Dilución en agar y caldo
 - o Gradiente en placa
 - o Pruebas para desinfectantes
 - **Métodos descriptivos**
 - o Ensayos turbidimétricos
 - o Curvas de inhibición y muerte
 - **Métodos aplicados**
 - o Punto final
 - o Curvas de inhibición y muerte
 - **Métodos para evaluar mezclas de sustancias**
-

Un método ampliamente utilizado para la evaluación de los antimicrobianos naturales es el conocido como “zona de inhibición” (Zaika, 1988), se trata de un método sencillo, sin embargo el efecto inhibitorio del compuesto que se va a evaluar, dependerá de su habilidad

para difundirse en el medio. Este método, cae en los de la clasificación de los llamados de punto final y se le conoce como “ensayo de disco”. Uno de los requisitos para obtener resultados confiables y repetibles es que el microorganismo a evaluar se desarrolle rápida y uniformemente (Davidson y Parish, 1989).

Efectos de mezclas de antimicrobianos

Cuando se combinan dos o más antimicrobianos, pueden suceder tres efectos. Primero puede haber un efecto aditivo, como lo define Barry (1976), “el efecto combinado es igual a la suma de los efectos observados con los agentes probados individualmente o igual al agente más activo en la combinación”. El efecto aditivo ocurre cuando la actividad microbiana del compuesto no aumenta ni disminuye con la presencia de otro agente. El segundo efecto es el sinergismo, “el efecto que se observa con una combinación es mayor que la suma de los efectos observados de los agentes probados individualmente”. El sinergismo se refiere al incremento de la actividad antimicrobiana de un compuesto con la presencia de un segundo agente antimicrobiano. Por último también puede ocurrir el efecto antagónico. El antagonismo ocurre cuando la actividad antimicrobiana de un compuesto es reducida con la presencia de un segundo agente antimicrobiano (Davidson y Parish, 1989).

Un método para saber el tipo de interacción que siguen los antimicrobianos es el uso de isobologramas. Estos diagramas se realizan usando los datos de CMI (concentraciones mínimas inhibitorias) directamente o calculando las CFI (concentraciones fraccionarias inhibitorias). Si los dos compuestos son aditivos, el resultado es una línea recta entre los ejes X y Y. Sinergismo indica una desviación a la izquierda de la línea de aditividad, antagónico es una desviación de la curva hacia la derecha de la línea de aditividad (Davidson y Parish, 1989).

Uso de isobologramas

Los isobologramas son utilizados para definir si existe actividad aditiva, antagónica o sinérgica. En un isoblograma se grafican el CFI del agente A contra el agente B. La línea recta representa aditividad entre los antimicrobianos, la mezcla es sinérgica si el isoblograma es cóncavo (por debajo de la

línea de aditividad) y es antagónico si es convexo (por arriba de la línea de aditividad). Este criterio igual se aplica en mezclas de 2 o mas agentes (Berenbaum, 1978).

Futuro de los antimicrobianos de origen natural

El futuro de los antimicrobianos de origen natural, se encuentra determinado por la actitud del consumidor actual ante los conservadores químicos. Los antimicrobianos de origen natural, se consideran como fuentes potencialmente seguras, pero su uso real en los productos alimenticios, se ha establecido para pocos casos. Cualquiera de estos extractos, deberá ser sometido a rigurosos estudios toxicológicos. La legislación de muchos países, ha sido modificada para hacer extensiva el uso de cantidades mínimas de conservadores de origen químico para la próxima década. Este avance en material legislativa, hacia estrategias no químicas puede favorecer sus probabilidades y ventajas económicas (Hernández, 2003).

CONCLUSIONES

La estabilidad y seguridad de estos productos, se basa fundamentalmente en la conservación mediante la adición de agentes microbianos naturales, esto es debido a que el uso de los agentes antimicrobianos sintéticos han presentado problemas en el ser humano, es por ello que se ha generado la necesidad de buscar alternativas de conservación que cubran las mismas propiedades antimicrobianas y compatibilidad con el alimento. Sin embargo hay mucho por descubrir, para así poder obtener productos más sanos, nutritivos y con mejor características.

La calidad de las frutas y hortalizas tratados con agentes antimicrobianos naturales vegetales dependerá en gran manera de la baja concentración del agente utilizado (como es el caso del aldehído cinámico) para dar tratamiento antimicrobiano a las frutas y hortalizas.

El uso de esta novedosa tecnología (antimicrobianos naturales vegetales), significaría una opción productiva para empresarios en diversas regiones de nuestro país, así como una importante fuente de empleos, es decir que este tipo de tecnología

impulsa la posibilidad de comercializar los productos regionales hacia otros estados de la república y por que no, hacia otros lugares del mundo.

La legislación de muchos países, ha sido modificada para hacer extensiva el uso de cantidades mínimas de conservadores de origen químico para la próxima década. Este avance en materia legislativa, hacia estrategias no químicas puede favorecer sus probabilidades y ventajas económicas.

LITERATURA CITADA

- Aligiannis N, Kalpoutzakis E, Mitaku S, Chinou IB. **Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species.** J. Agric. Food Chem. 2001; 49: 4168-4170.
- Álvarez-Parrilla, 2006. **Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas.** Disponible en: http://www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/images/files_pdf/brasil/olga.pdf, [Consulta 09/ Nov. /2007]
- Alzamora, S.M. 1997. **Preservación. Alimentos conservados por factores combinados.** En: J.M. Aguilera (Ed.). Temas en tecnologías de Alimentos.1. México. CYTED.IPN.P. 45-48.
- Ayala-Zavala J.F., (2005). **Los aceites esenciales poseen propiedades antimicrobianas, uno de los más estudiados es el aceite de ajo, aplicación en productos vegetales.** Disponible en http://www.alfa-editores.com/web/index.php?option=com_content&task=view&id=713 [Consulta 13/Dic. / 2007]
- Beuchat, L.R. y Golden, D.A. 1989. **Antimicrobials occurring naturally in foods.** Food Technol. 43(1): 134-142.
- Beuchat, L.R. 2001. **Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring antimicrobials.** En: Microbial Food Contamination. Wilson CL, S Droby. (Ed.). CRC Press. London, UK. Chap. 11: 149-169.
- Blanchard J., 2000. **Los antimicrobianos naturales refuerzan la seguridad en los alimentos.** Disponible en: <http://www.directoalpaladar.com/2006/10/28-los-antimicrobianos-naturales-refuerzan-la-seguridad-en-los-alimentos> [Consulta 28/Oct./2007]
- Burt SA, Reinders RD, **Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7.** Lett Applied Microbiol. 2003; 36: 162-167.
- Davidson, P.M. 2001. **Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds.** En: Food Microbiology: and Fundamentals and frontiers, 2 Ed. Doyle MP, LR Beuchat, TJ Montville (Eds.). ASM Press, Washington, D.C., USA. Chap. 29: 593-627
- Davidson, P.M. y Branen, A.L. (Eds.). 1993. **Antimicrobials in foods.** Marcel Dekker, Inc New York. Citado en: López-Malo, A.2000. La preservación multiobjetivo de Alimentos:
- Del Valle, E. M., (2003). **Preservación de frutas y hortalizas, mediante métodos artesanales.** Disponible en: <http://www.ocetif.org/buenaspracticass.html> [Consulta 03 /Nov. /2007]
- Efecto de Factores Tradicionales y Emergentes en la Respuesta de *Aspergillus flavus*.** Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires.
- Fernandez, T. **Componentes de la pimienta negra con efectos antimicrobianos, caracas Venezuela.** junio, 2007.
- Gould, G.W. 1989. **Drying, raised osmotic pressure and low water activity.** En: G.W. Gould (Ed.). Mechanisms of Action of Food Preservation Procedures, pp. 97. Elsevier Applied Science, London. Citado en: Alzamora, S.M. 1997. Preservación. Alimentos conservados por factores combinados. En: J.M. Aguilera (Ed.). Temas en tecnologías de Alimentos.1. México. CYTED.IPN.P. 45-48.
- Hammer KA, Carson CF, Riley TV. **Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts.** J. Appl. Microbiol. 1999; 86 (6): 985-990.
- Hernández, P.L.C. 2003. **Actividad inhibitoria y letal de los extractos de ajo para *E. coli* y *L. innocua*.** Tesis de Licenciatura. Universidad de Las Américas. http://www.catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/hernandez_p_ld/capitulo4.pdf
- Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T. Sarcai, 1978. **Inhibitory effects of apices on growth and toxin production of toxigenic fungi.** Appl. Environ. Microbiol. 39:818-822.
- Ismaiel, A. y Pierson, M.D. 1990. **Inhibitory of growth and germination of *C. Botulinum* 33A, 40B Y 1623E by essential oil of apices.** J. Food Sci. 55(6):1676.
- Jay,J.M. 1991. **Modern Food Microbiology.** Chapman y Hall. New York.
- Leistner, L. y Rodel, W. 1976. **The stability of immediate moisture foods with respect to microorganism.** En: Intermediate Moisture Foods. R. Davies, G-G. Birch, K.J. Parker (Eds.). Applied Science Publishers Ltd., London. p. 120. Citado en: Alzamora, S.M.