

Uso de agentes antimicrobianos naturales como inhibidores de *Salmonella enteritidis* en diferentes tipos de carne

Alexis Rocha González,¹ Guillermo Tellez Isaías,²
Humberto Vaquera Huerta,³ Judith Alejandre López,⁴
Gilberto Randy Rojas Rubio¹ y Jesús Eduardo Morales Barrera^{4*}

Resumen. Se evaluó el efecto antimicrobiano de extractos naturales para inhibir el crecimiento de *Salmonella enteritidis* (SE) en carne de supermercado. Se realizaron tres experimentos (exp) en un arreglo factorial AxB (6x4), con 24 tratamientos y tres réplicas de cada uno, en carne de pollo, cerdo y res (exp 1, 2 y 3, respectivamente), inoculadas con SE. El factor A fue testigo positivo a SE, extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*), toronja (*Citrus paradisi*), ajo (*Allium sativum*), ácido acético al 3% (acac) y orégano (*Origanum vulgare*); el factor B fue la dilución de antimicrobianos, no diluido (0), 1:10, 1:100 y 1:1000. Muestras de 1 cm³ de carne fueron introducidas por 30 s en solución con 10⁶ UFC/mL de SE, posteriormente se colocaron en los antimicrobianos naturales en sus diluciones, sembrando en cajas de petri incubándose a 37 °C por 24 h, el conteo de UFC por cm² fueron convertidas a Log₁₀ (UFC) para su análisis. Las inhibiciones fueron evaluadas a la P<0.05. En todos los experimentos el testigo creció más [(P<0.05) SE] que los antimicrobianos. En la carne de pollo, el acac, ajo y tomillo 0:0 disminuyeron a SE con 4.69, 5.10 y 5.43 UFC, respectivamente; en los efectos principales de AxB, en A el tomillo disminuyó más 5.45 y en B 0:0 fue 5.55 UFC. En carne de cerdo, acac y ajo no diluidos inhibieron a SE con 3.65 y 4.82 UFC, respectivamente; acac 1:10 con 6.15 UFC; en A el ajo disminuyó más a SE 6.01 UFC, el acac con 6.48, tomillo 6.82, toronja 6.91 y orégano 7.22 UFC, en B a 0:0 disminuyeron más el crecimiento de SE con 5.74 UFC. En la carne de res, toronja sin diluir fue mejor con 6.23, tomillo a 1:100 con 6.69 y orégano a 0:0 con 6.70 UFC, para factor A y B fueron similares, excepto el acac con mayor crecimiento de SE 9.13 UFC.

¹ Estudiante de Maestría en Ciencias Agropecuarias, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, CDMX, México.

² Department of Poultry Science University of Arkansas, Fayetteville, AR 72704, USA.

³ Programa de Estadística Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Texcoco, Estado de México, México.

⁴ Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, CDMX, México.

* Autor de correspondencia: jemorab@yahoo.com.mx y jemorab@correo.xoc.uam.mx.

Se concluye que en la carne de pollo y cerdo inhibió más a SE el acac, tomillo y ajo a 0:0; en carne de res, la toronja, el tomillo y el orégano. Diluir los antimicrobianos disminuye el efecto contra SE y crece más en la carne de res.

La mejor inhibición del crecimiento de Salmonella enteritidis fue con ácido acético, tomillo y ajo sin diluir aplicado sobre la carne de pollo y cerdo, para la carne de res fue la toronja, el tomillo y el orégano. Las diluciones de los antimicrobianos disminuyen el efecto contra SE. De los tres tipos de carne tratados con los antimicrobianos estudiados, es en la carne de res donde SE crece más.

Palabras clave: Extractos naturales, Aceites esenciales, Salmonella.

Abstract. The antimicrobial effect of natural extracts was evaluated to inhibit the growth of Salmonella enteritidis (SE) in supermarket meat. Three experiments (exp) were performed in an AxB (6x4) factorial arrangement with twenty-four treatments and three replicates each; in chicken, pork and beef meat (exp 1, 2 and 3 respectively) inoculated with SE; Factor A was positive to SE, extract of thyme (*Thymus vulgaris*), grapefruit (*Citrus paradisi*), garlic (*Allium sativum*), 3% acetic acid (acac) and oregano (*Origanum vulgare*), factor B was the dilution of antimicrobials to undiluted (0), 1:10, 1:100 and 1:1000. Samples of 1 cm³ of meat were introduced for 30 s in solution with 10⁶ CFU / mL of SE, later they were placed in the natural antimicrobials in their dilutions, sowing in petri dishes, incubating at 37 ° C for 24 h, the CFU count per cm² were converted to Log₁₀ (CFU) for analysis. Inhibitions were evaluated at P <0.05. In all the experiments the control grew more (P <0.05) SE than the antimicrobials; in chicken meat, acac, garlic and thyme undiluted decreased to SE with 4.69, 5.10 and 5.43 CFU respectively, in the main effects of AXB, in A, thyme decreased more than 5.45 and in B, 0:0 it was 5.55 CFU. In pork, acac and garlic undiluted inhibited SE with 3.65 and 4.82 CFU respectively, acac 1:10 with 6.15 CFU; in A, garlic decreased more at SE 6.01 CFU, acac with 6.48, thyme 6.82, grapefruit 6.91 and oregano 7.22 CFU, in B at 0:0 they further decreased SE growth with 5.74 CFU. In beef, undiluted grapefruit was better with 6.23, thyme at 1:100 with 6.69 and oregano at 0:0 with 6.70 CFU, for factor A and B they were similar, except the acac with the highest growth of SE 9.13 CFU. It is concluded that in chicken and pork meat SE acac, thyme and garlic were more inhibited at 0:0, in beef, grapefruit, thyme and oregano. Diluting antimicrobials decreases the effect against SE and grows more in beef.

The best inhibition of the growth of Salmonella enteritidis was with undiluted acetic acid, thyme and garlic on chicken and pork, for beef it was grapefruit, thyme and oregano. Antimicrobial dilutions decrease the effect against SE, and of the three types of meat, with antimicrobials studied in beef SE grows more.

Keywords: Natural extracts, Essential oils, Salmonella.

INTRODUCCIÓN

Los programas de inocuidad, cuyo enfoque es la manipulación y manejo de carne destinada al consumo humano, en ocasiones suelen ser deficientes (Shakeri *et al.*, 2017), convirtiendo la carne en un fómite para la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) (Bajpai y Baek, 2016), entre las que destaca la zoonosis, conocida como salmonelosis (Tarabees *et al.*, 2017). Esta enfermedad constituye una de las principales preocupaciones de salud pública a nivel mundial (Shakeri *et al.*, 2017). *Salmonella enteritidis* (*SE*) es considerada la serovariedad más importante en las enfermedades gastrointestinales humanas (Jaradat *et al.*, 2014), con 3.4 millones de casos y 681,316 muertes anuales a nivel mundial (Balasubramanian *et al.*, 2018).

Esta situación se agrava con el uso indiscriminado de antibacterianos sintéticos (Thung *et al.*, 2016), que ocasionan una presión selectiva y el incremento de la resistencia bacteriana (Kon y Rai, 2012). En la alimentación animal, se han utilizado agentes antibacterianos sintéticos, por ejemplo, conservadores químicos para controlar el deterioro y/o contaminación del alimento. No obstante, diversas investigaciones han demostrado el daño que su consumo causa en la población (Dinesh y Cheorun, 2014). Estas disposiciones en el mercado de carne mexicano han suscitado un gran interés científico en el uso de tecnologías que permitan disminuir el uso de antibacterianos y conservadores químicos en los alimentos. Por ello, es necesario incrementar la comprensión referente al potencial de agentes naturales sobre las ETAs, en especial salmonelosis. El propósito de esta investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano del orégano, tomillo, ajo, toronja y ácido acético sobre el crecimiento de *SE* en carne de pollo, res y cerdo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio experimental

El presente estudio se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Aislado de *Salmonella enteritidis* y extractos de antimicrobianos naturales

El aislado primario de *SE* (tipo 13A) fue trabajado en el Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios de Ames, Iowa. Seleccionado por su resistencia a nalidíxico (NA) ($C_{12}H_{12}N_2O_3$) y el antibacteriano novobiocina (NO). El ácido acético (vinagre 5%) fue de uso comercial. Los extractos de orégano, tomillo, ajo y toronja se obtuvieron mezclando 50 g de producto, con 200 mL de agua destilada desionizada/24 h. La mezcla se trituroó utilizando una licuadora (Variable-speed blender JZ-04244-85; Cole-Parmer., Vernon Hills, United States), durante 30 s. La solución se filtró dos veces como lo describe Quevedo *et al.* (2010), mediante papel filtro (Filter-paper 1001-055 grade 1; Whatman., Maidstone, United Kingdom).

Obtención de Unidades Formadoras de Colonias ($\text{Log}_{10}/\text{cm}^2$) de *Salmonella enteritidis*

Se cultivaron 100 μL de *SE* de una alícuota congelada en 30 mL de caldo trípico de soya (TSB) (BD Tryptic Soy Broth 257107; Becton- Dickinson Co., Franklin Lakes, Estados Unidos) e incubó por 24 h en una estufa de cultivo bacteriológico a 37° C, posteriormente, las bacterias fueron colocadas en cuatro tubos de plástico de 12 mL y se centrifugaron a 3000 g durante 15 min mediante una centrífuga (Porta-Spin C828; ÚNICO., Dayton, Estados Unidos). Se retiró el sobrenadante y al sedimento se le agregó solución salina fisiológica estéril (SSF) al 0.9% hasta obtener la dosis de 10^6 Log/mL.

Muestras de carne de pollo, res y cerdo

Se realizaron cortes de 1 cm^3 de músculo *longissimus dorsi* de res y cerdo, y de los músculos pectorales (pechuga) de pollo, los que fueron sometidos a inmersión en alcohol al 96%, posteriormente, se flamearon y se retiró la capa externa de cada muestra con el fin de eliminar microorganismos presentes.

Los fragmentos de carne se sumergieron por 30 s en solución con 10^6 Log/mL de *SE*, posteriormente, se sometieron a inmersión en cada antimicrobiano natural a diferentes diluciones (sin diluir, 1:10, 1:100 y 1:1000). Las muestras se maceraron en bolsas con cierre hermético y 5 mL de SSF, para posteriormente ser incubadas en una estufa bacteriológica (BacterioLogical Incubator 35411; Quincy Lab., Chicago, United States) a 37° C/2 h, realizando tres repeticiones para cada tratamiento. Se realizó un testigo para

cada experimento, el cual corresponde a cada tipo de carne. Cada testigo compete a muestras de carne de 1 cm³ inoculadas con *SE* sin la adición de un antimicrobiano. Las muestras se maceraron en bolsas con cierre hermético y 5 mL de SSF e incubaron a 37° C/2 h. De igual forma se llevaron a cabo 3 repeticiones para cada testigo.

Cuantificación de *Salmonella enteritidis*

La *SE* se cuantificó mediante diluciones de 20 µL de inóculo y 180 mL de SSF, en microplacas estériles (96 well-microplates 6-2013; Simport Scientific, Saint-Mathieu-de-Beloeil, Canadá). Cada muestra fue sembrada en agar verde brillante (BD Brilliant Green Agar PA-212097.07; Becton- Dickinson Co., Franklin Lakes, United States). Con el objetivo de inhibir bacterias diferentes a *SE*, se adicionó NA y NO (Thung *et al.*, 2016). Las cajas Petri fueron incubadas a 37° C por 24 h, se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento. La cuantificación de *SE* se realizó por medio de un microscopio estereoscópico (Binocular Stereoscopic Microscope VE-S1; VELAB Co., New Jersey, United States).

Diseño Experimental:

Un Diseño factorial A x B (6 x 4) fue utilizado en el experimento 1 con carne de pollo; experimento dos, con carne de cerdo, y experimento tres con carne de res, contando con 24 tratamientos con tres réplicas cada uno, en donde A es el testigo positivo a *SE* y antimicrobianos (extracto de tomillo, toronja, ajo, ácido acético y orégano) en forma individual, y B la dilución (0:0, 1:10, 1:100, 1:1000).

El Modelo estadístico fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + e_{ij}$$

Y_{ij}: respuesta inhibición bacteriana

μ: Media

α_i, β_j: Son los efectos producidos por el nivel i-ésimo del factor A (tipo de antimicrobiano natural), por el nivel j-ésimo del factor B (dilución), respectivamente.

(α β)_{ij}: Son los efectos producidos por la interacción entre A x B, respectivamente.

e_{ij}: error ~n (0, δ²).

Análisis estadístico

El conteo bacteriano se expresó como la media del $\text{Log}_{10}/\text{cm}^2$. Un análisis de varianza con diseño factorial A x B (6 x 4) fue utilizado en cada experimento con tres réplicas. La comparación entre tratamientos se evaluó mediante el análisis de varianza y las diferencias entre los tratamientos se examinaron mediante la prueba de Tukey con una significancia de $P < 0.05$, utilizando PROC ANOVA, SAS, System, v. 9.4, Cary, NC, 2013.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores promedio obtenidos de las evaluaciones con los diferentes extractos naturales de cada experimento se encuentran en el Cuadro 1. Para el primer experimento con la carne de pollo, el tratamiento testigo tuvo mayor crecimiento ($P < 0.05$) que los antimicrobianos, de los cuales el que inhibió más el crecimiento de *SE* fue el ácido acético, el ajo y el tomillo ($P < 0.05$) sin diluir 0:0 con 4.69, 5.10 y 5.43 UFC, respectivamente. No obstante, para los efectos principales del diseño experimental el factor antimicrobiano (A) que disminuyó más el crecimiento de *SE* ($P < 0.05$) fue el tomillo con 5.45 UFC, el ácido acético con 6.10 UFC, orégano 6.36 UFC, ajo 6.49 UFC y toronja 6.99 UFC, respectivamente, y para las diluciones (B), fueron mejor ($P < 0.05$) los tratamientos sin diluir 0:0 (5.55 UFC), que las diluciones evaluadas.

Cuadro 1. Resultados en la carne de pollo, res y cerdo, en la inhibición del crecimiento de *Salmonella enteritidis* (UFC log₁₀/cm²) con extractos de tomillo, toronja, ajo, ácido acético y orégano a diluciones de 0, 1:10, 1:100 y 1:1000

CARNE/DILUCIÓN	TESTIGO	TOMILLO	TORONJA	AJO	ÁCIDO ACÉTICO	ORÉGANO	PROMEDIO
Experimento 1 pollo							
0	9.25 ^a ±0.43	5.43 ^{def} ±0.75	6.52 ^{bcd} ±0.19	5.10 ^{ef} ±0.17	4.69 ^f ±0.52	6.01 ^{cdef} ±0.52	5.55 ^y ±0.78
1:10	9.25 ^a ±0.43	6.10 ^{cdef} ±0.17	7.67 ^{abc} ±1.45	6.66 ^{bcd} ±0.57	5.89 ^{def} ±0.17	6.79 ^{bcd} ±0.44	6.62 ^x ±0.89
1:100	9.25 ^a ±0.43	4.66 ^f ±0.58	8.13 ^{ab} ±0.19	6.25 ^{cdef} ±0.65	6.98 ^{bcd} ±0.19	5.86 ^{def} ±0.51	6.38 ^x ±1.25
1:1000	9.25 ^a ±0.43	5.63 ^{def} ±0.35	5.63 ^{def} ±0.63	7.96 ^{ab} ±0.35	6.85 ^{bcd} ±0.61	6.79 ^{bcd} ±0.17	6.57 ^x ±0.99
Promedio		5.45 ^z ±0.69	6.99 ^x ±1.23	6.49 ^{xy} ±1.14	6.10 ^y ±1.02	6.36 ^{xy} ±0.60	
Experimento 2 cerdo							
0	9.50 ^a ±0.86	6.53 ^{bc} ±0.80	6.69 ^{bc} ±0.53	4.82 ^{cd} ±0.30	3.65 ^d ±0.49	6.31 ^{bc} ±0.15	5.74 ^y ±1.21
1:10	9.50 ^a ±0.86	7.30 ^b ±0.69	6.49 ^{bc} ±0.50	6.30 ^{bc} ±0.60	6.15 ^{bc} ±0.27	7.43 ^{ab} ±0.51	6.73 ^x ±0.70
1:100	9.50 ^a ±0.86	6.65 ^{bc} ±0.32	7.28 ^b ±0.62	6.69 ^{bc} ±0.53	7.76 ^{ab} ±0.40	6.92 ^{bc} ±0.93	7.06 ^x ±0.66
1:1000	9.50 ^a ±0.86	6.79 ^{bc} ±0.44	7.20 ^b ±0.34	6.25 ^{bc} ±0.87	7.41 ^{ab} ±0.61	8.23 ^{ab} ±1.32	7.18 ^x ±0.96
Promedio		6.82 ^x ±0.59	6.91 ^x ±0.55	6.0 ^y ±0.90	6.48 ^x ±1.59	7.22 ^x ±1.03	
Experimento 3 Res							
0	9.57 ^a ±1.00	8.10 ^{abc} ±1.52	6.23 ^c ±0.26	8.20 ^{abc} ±1.90	8.63 ^{abc} ±1.15	6.70 ^{bc} ±0.17	7.57 ^x ±1.41
1:10	9.57 ^a ±1.00	7.82 ^{abc} ±0.30	8.76 ^{abc} ±0.40	8.25 ^{abc} ±0.44	9.09 ^{ab} ±1.29	7.49 ^{abc} ±0.87	8.28 ^x ±0.88
1:100	9.57 ^a ±1.00	6.69 ^{bc} ±0.21	8.66 ^{abc} ±0.57	7.81 ^{abc} ±0.51	9.35 ^a ±0.39	8.00 ^{abc} ±1.0	8.10 ^x ±1.05
1:1000	9.57 ^a ±1.00	8.06 ^{abc} ±0.40	8.07 ^{abc} ±0.34	7.39 ^{abc} ±0.35	9.46 ^a ±0.15	7.66 ^{abc} ±0.57	8.13 ^x ±0.80
Promedio		7.67 ^y ±0.91	7.93 ^y ±1.12	7.91 ^y ±0.94	9.13 ^x ±0.83	7.46 ^y ±0.79	

Valores promedio expresados en UFC log₁₀/cm²± Desviación Estándar.

abcdef/ valores con diferente literal, por tratamiento en cada experimento, son estadísticamente diferentes (P<0.05).

xyz/ valores con diferente literal, por antimicrobiano y/o dilución en cada experimento, son estadísticamente diferentes (P<0.05)

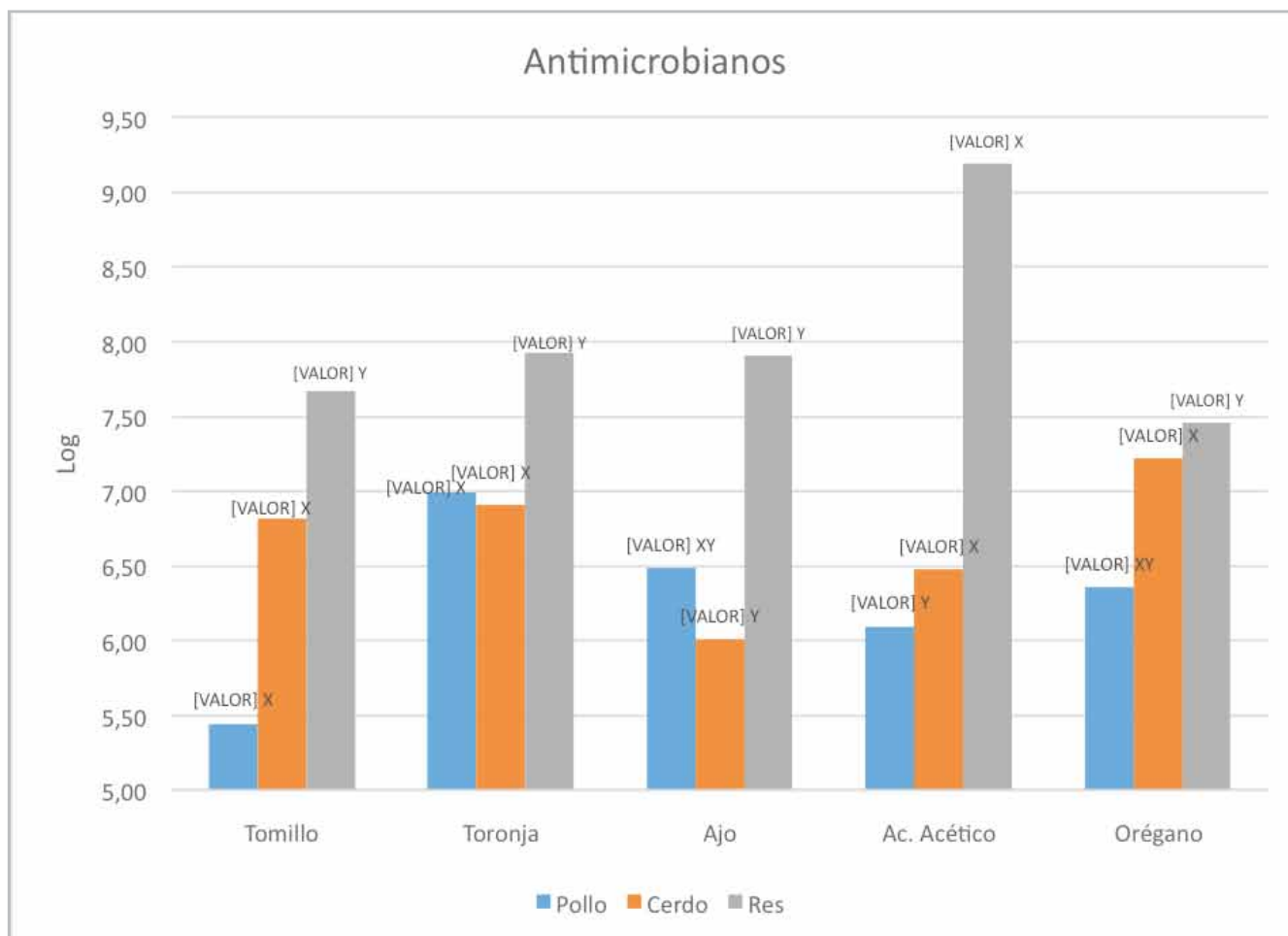
Para el experimento dos, con la carne de cerdo, similarmente al primer experimento, el tratamiento testigo tuvo mayor crecimiento ($P < 0.05$) que los antimicrobianos, de los cuales, el ácido acético presentó mayor eficacia contra *SE*, seguido del ajo no diluido (3.65 y 4.82 UFC, respectivamente) y el Ac acético 1:10 con 6.15 UFC; para los efectos principales del diseño experimental, el factor antimicrobiano (A) que tuvo mayor eficacia contra *SE* ($P < 0.05$) fue el ajo (6.01 UFC), el ácido acético con 6.48 UFC, tomillo 6.82 UFC, toronja 6.91 UFC y orégano 7.22 UFC; los antimicrobianos no diluidos fueron los que más disminuyeron el crecimiento bacteriano con 5.74 UFC ($P < 0.05$), que las diluciones evaluadas.

En el tercer experimento con la carne de res, también el testigo creció más ($P < 0.05$) *SE* que los antimicrobianos, de los cuales el que inhibió más el crecimiento ($P < 0.05$) de *SE* fue la toronja sin diluir con 6.23 UFC, el tomillo a 1:100 con 6.69 UFC y el orégano sin diluir con 6.70 UFC; para los efectos principales, los antimicrobianos y las diluciones fueron similares ($P > 0.05$), excepto el ácido acético que tuvo el mayor crecimiento de *SE* (9.13 UFC).

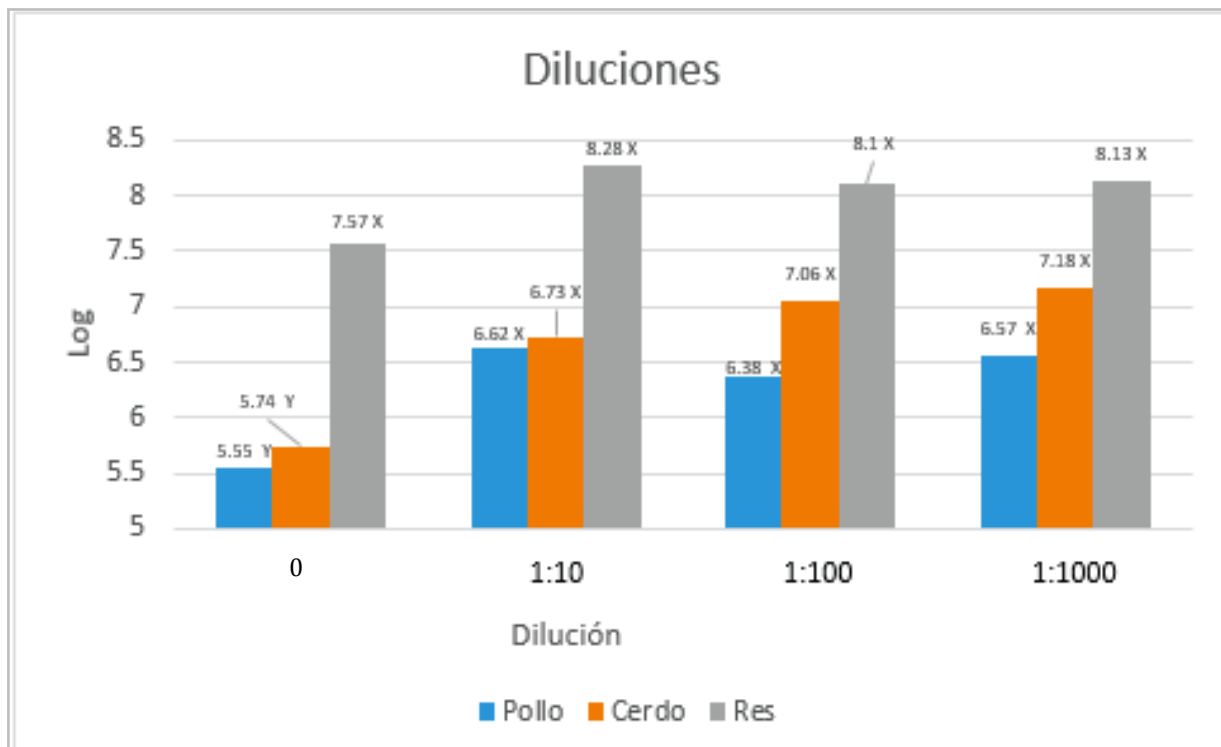
En la Gráfica 1 podemos observar la eficacia de los antimicrobianos en las carnes de pollo, cerdo y res. Para el efecto principal antimicrobiano, el tomillo disminuye más el crecimiento de *SE* en pollo; el ajo en el cerdo, y en la carne de res el orégano. Por otra parte, en la Gráfica 2 se puede ver que para el factor dilución, el antimicrobiano es mejor sin diluir 0:0. También en estas dos gráficas se observa que numéricamente *SE* creció más en la carne de res que en la de pollo y cerdo. En las gráficas 3, 4 y 5 se puede observar que los antimicrobianos disminuyeron significativamente ($P < 0.05$) el crecimiento de *SE* en relación con el testigo.

El mecanismo del ácido acético consiste en depositar aniones en el citoplasma, acumulándose y reduciendo el pH interno celular y sus moléculas lipófilas que confieren la propiedad de difundirse a través de la membrana celular, afectando el metabolismo óptimo celular de la síntesis de proteínas y de ácidos nucleicos de la célula bacteriana, dando como resultado interrupción de la función celular y la inhibición bacteriana (Tan *et al.*, 2015; Amrutha *et al.*, 2017). Al afectar la permeabilidad de la membrana se interfiere el transporte de nutrientes, y al formar quelatos con los iones metálicos se interrumpe la fuerza motriz del protón y afecta negativamente la producción de energía bacteriana, necesaria para el crecimiento microbiano (Olaimat *et al.*, 2018). Al respecto, Mani *et al.* (2012) reportaron que una aplicación de acético al 2% redujo la incidencia de *Salmonella* en carne de cerdo, mientras que en carne de pollo se requería 4%. Esta información es congruente con los resultados encontrados en este estudio, ya que el ácido acético sin diluir, aplicado sobre la carne de pollo y cerdo cuantificó también una reducción en *SE*.

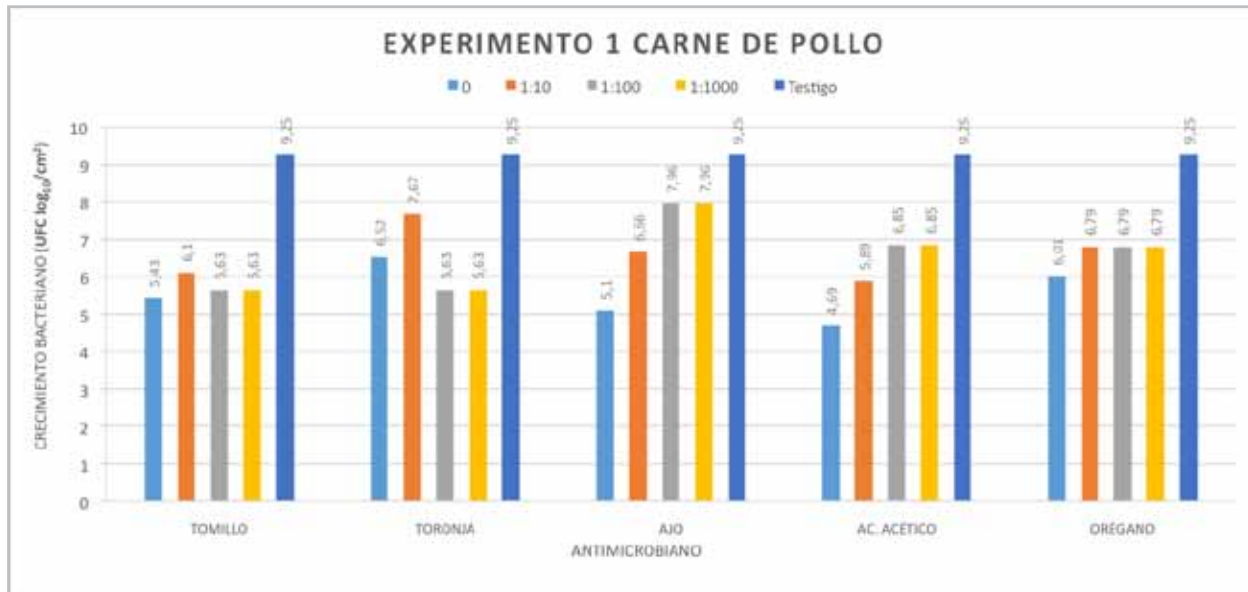
Gráfica 1. Inhibición del crecimiento de *Salmonella enteritidis* (UFC log₁₀/cm²) de los antimicrobianos evaluados (factor A) en las carnes de pollo, cerdo y res



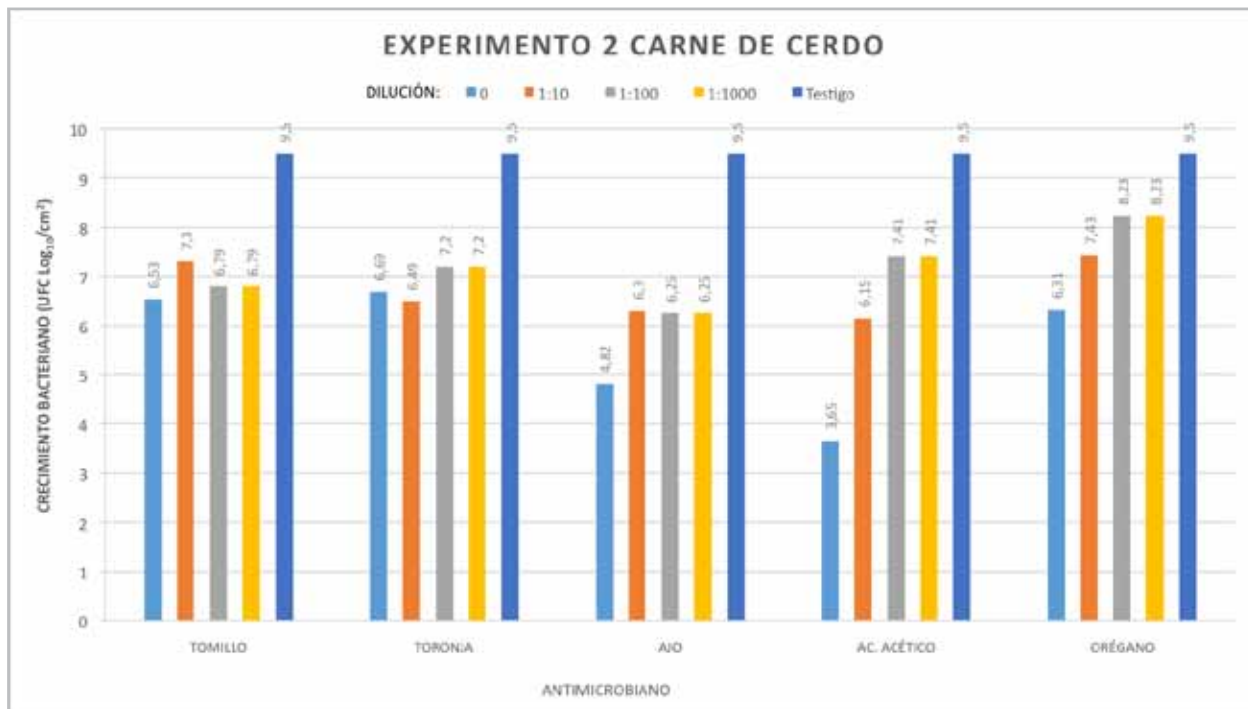
Gráfica 2. Inhibición del crecimiento de *Salmonella enteritidis* (UFC \log_{10}/cm^2) con los extractos de antimicrobianos estudiados no diluidos y a diluciones de 1:10, 1:100 y 1:1000 (factor B) en las carnes de pollo, res y cerdo



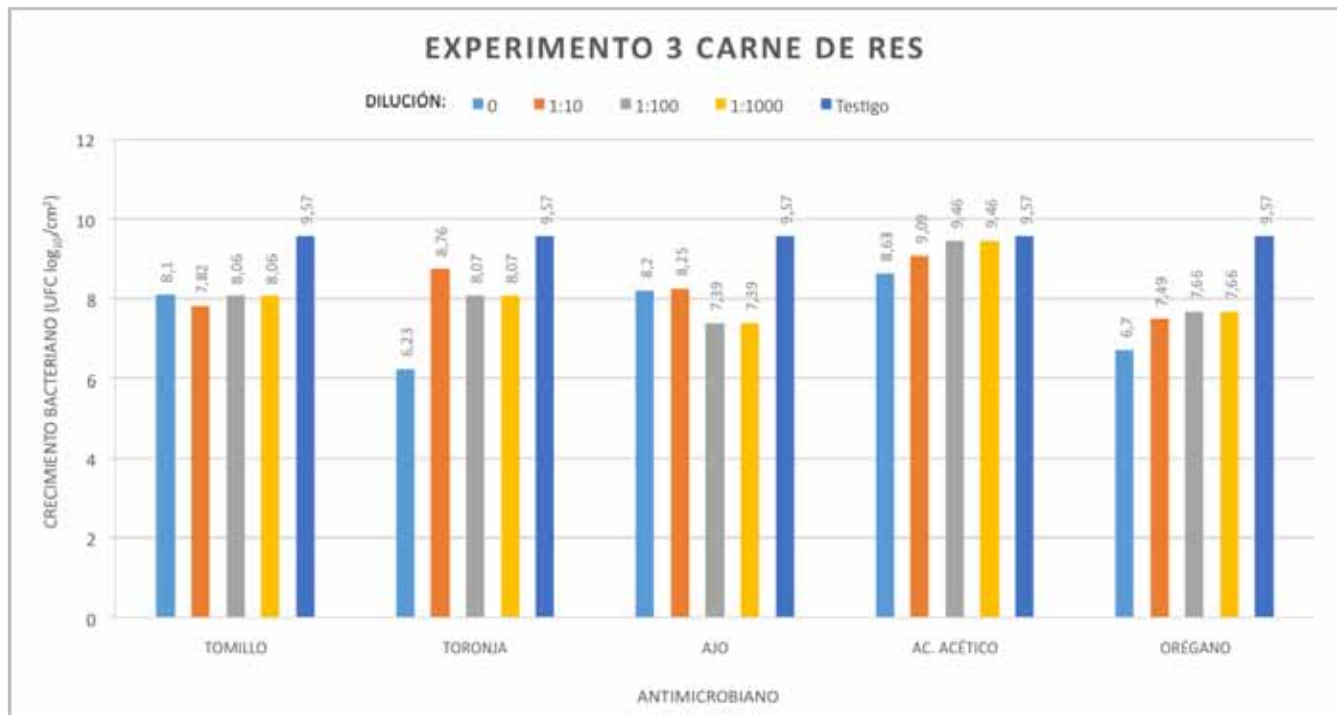
Gráfica 3. Comparación del crecimiento de *Salmonella enteritidis* (UFC \log_{10}/cm^2) con los antimicrobianos estudiados, con relación, al testigo en la carne de pollo



Gráfica 4. Comparación del crecimiento de *Salmonella enteritidis* (UFC \log_{10}/cm^2) con los antimicrobianos estudiados, con relación al testigo en la carne de cerdo



Gráfica 5. Comparación del crecimiento de *Salmonella enteritidis* (UFC \log_{10}/cm^2) con los antimicrobianos estudiados, con relación al testigo en la carne de res



Los ácidos orgánicos como el acético dependen de su valor de pK_a y son más activos en condiciones ácidas debido a la presencia de una mayor proporción del ácido orgánico en forma no disociada, que puede atravesar la membrana bacteriana y la reducción del pH interno celular posterior a la disociación de iones hidrógeno (Al-Rousan *et al.*, 2018).

El tomillo sin diluir 0:0 y diluido 1:100, aplicado sobre la carne de pollo, disminuyó a SE (5.43 y 4.66 Log, respectivamente), el fenol mono terpenoide carvacrol [$C_6H_3CH_3(OH)$ (C_3H_7)] y timol ($C_{10}H_{14}O$), contenido en el tomillo (Boskovic *et al.*, 2017; Ulusoy *et al.*, 2018), se ha correlacionado de manera positiva con la filtración de iones y ATP a través de la membrana bacteriana (Possas *et al.*, 2017; Cattelan *et al.*, 2018). De manera paralela, Bajpai y Baek (2016) informaron que la exposición de *Bacillus cereus* a mono terpenos dio como resultado una disminución en la síntesis de ATP intracelular. Este hecho puede deberse a la pérdida de fosfato inorgánico (PO_4^{-3}) a través de la membrana (Vergis *et al.*, 2015). La filtración de material citoplasmático también inhibe: i) la fuerza motriz del protón (FMP), ii) la transferencia de electrones, iii) la cadena mitocondrial respiratoria, iv) la oxidación del sustrato y el transporte activo y v) la síntesis de ácido desoxirribo-

nucleico (ADN) y proteínas (Langeveld *et al.*, 2014; Embuscado, 2015; Vergis *et al.*, 2015; Aziz y Karboune, 2017). Al respecto, Boskovic *et al.* (2017) demostraron que *SE* es más sensible a los componentes del tomillo con relación a otras sero variedades como son *S. typhimurium*, *S. montevideo* e *S. infantis*. Se ha demostrado que la aplicación de bálsamo de tomillo al 0.5% limita significativamente el crecimiento de *Salmonella spp* en la carne de pollo, además causa inhibición del crecimiento de bacterias ácido lácticas, posterior a su almacenamiento (Jayasena y Jo, 2013).

El ajo sin diluir, aplicado sobre la carne de pollo y cerdo, mostró reducción en *SE* correspondiente a 5.10 y 4.82 Log, respectivamente; su actividad antimicrobiana se confiere a la alicina y a su grupo químico reactivo sulfóxido (S- (O) –S), el cual inhibe las enzimas bacterianas, la replicación del ADN y la síntesis de proteínas. Estudios contra *Salmonella typhimurium* sugieren que la inhibición de la síntesis de ARN es el objetivo principal de la acción de la alicina (Wallock *et al.*, 2014). Casella *et al.* (2013) demostró la inhibición del ajo contra el crecimiento de bacterias como *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *E. coli*.

La toronja (6.23 Log) y el orégano (6.70 Log) tuvieron un efecto inhibitorio significativo ($P < 0.05$) de *SE* en la carne de res, no obstante, que en la carne de pollo y cerdo su efecto fue menor al ácido acético, tomillo y ajo. La toronja sin diluir fue el tratamiento que mejor inhibió el crecimiento de *SE* ($P < 0.05$) en la carne de res, es posible que las altas concentraciones de grasas y proteínas de la carne de res protegen a las bacterias, dando una capa protectora que permite absorber los aceites esenciales responsables de la actividad antibacteriana, disminuyendo así su concentración y eficacia (Perricone *et al.*, 2015). Husna (2017) y Boldrin *et al.* (2011) señalaron que *Salmonella* necesita metionina y vitamina B₁₂ como suplemento nutricional para su óptimo crecimiento y, debido a su elevado contenido de proteínas, carbohidratos y vitaminas (60 µg/g), como cobalamina (B₁₂) y biotina (Carrillo, 2007), la carne de res es ideal para el crecimiento de *SE*, y por ello fue la carne con un mayor crecimiento de ésta al adicionarse los antimicrobianos naturales de este estudio.

CONCLUSIÓN

La mejor inhibición del crecimiento de *Salmonella enteritidis* fue con ácido acético, tomillo y ajo aplicado sobre la carne de pollo y cerdo, para la carne de res fue la toronja, el tomillo y el orégano. Las diluciones de los antimicrobianos disminuyen el efecto contra *SE*. De los tres tipos de carne tratados con los antimicrobianos estudiados, es en la carne de res donde *SE* crece más.

Cabe destacar que la eficacia de los antimicrobianos naturales, o sus soluciones, en la carne para consumo humano será mayor al aplicar de forma rigurosa los Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES) y Buenas Prácticas de Manufactura e Higiene (BPMH).

BIBLIOGRAFÍA

- Al-Rousan, W. M. *et al.* (2018). "Use of acetic and citric acids to inhibit *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in tabbouleh salad" en *Food Microbiol*, 73: 61-66.
- Amrutha, B.; Sundar, K. y P. H. Shetty (2017). "Effect of organic acids on biofilm formation and quorum signaling of pathogens from fresh fruits and vegetables" en *Microb Pathog* 111: 156-162.
- Aziz, M. y S. Karboune (2017). "Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: a review" en *Crit Rev Food Sci Nutr* 14(3): 1-26.
- Bajpai, V. K. y K.-H. Baek (2016). "BioLogical efficacy and application of essential oils in foods: a review" en *JEOP* 19(1): 1-19.
- Balasubramanian, R., J. Im, J. S. Lee, H. J. Jeon, O. D. Mogeni, J. H. Kim, R. Rakotozandrindrainy, S. Baker, and F. Marks. 2018. The global burden and epidemiology of invasive non-typhoidal *Salmonella* infections. *Hum Vaccin Immunother* 12(1):1-6.
- Boldrin, J. *et al.* (2011). "Requirement for cobalamin by *Salmonella enterica* serovars *typhimurium*, *pullorum*, *gallinarum* and *enteritidis* during infection in chickens" en *Braz J Microbiol* 42(4): 1409-1418.
- Boskovic, M. *et al.* (2017). "Inhibition of *Salmonella* by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere" en *Int J Food Microbiol*, 258(1): 58-67.
- Carrillo, L. y M. C. Audisio (2007). *Manual de Microbiología de los Alimentos*. Argentina, Impreso por la Asociación Cooperadora de la Facultad de Ciencias Agrarias.
- Casella, S. *et al.* (2013). "The role of diallyl sulfides and dipropyl sulfides in the in vitro antimicrobial activity of the essential oil of garlic, *Allium sativum* L., and leek, *Allium porrum* L." en *Phytother Res*, 27(3): 380-383.
- Cattelan, M. G. *et al.* (2018). "Combined effects of oregano essential oil and salt on the growth of *Escherichia coli* in salad dressing" en *Food Microbiol*, 73(1): 305-310.

- Dinesh, D. J. y J. Cheorun (2014). "Potential application of essential oils as natural antioxidants in meat and meat products: a review" en *Food Rev Int*, 30(1): 71-90.
- Embuscado, M. E. (2015). "Spices and herbs: natural sources of antioxidants-a mini review" en *J Funct Foods* 18(B): 1-9.
- Husna, A. (2017). *Methionine biosynthesis, transport and metabolism in Salmonella typhimurium*. Melbourne, The Department of MicrobioLogy and ImmunoLogy. The University of Melbourne.
- Jaradat, Z. W. et al. (2014). "Comparative analysis of virulence and resistance profiles of *Salmonella enteritidis* isolates from poultry meat and foodborne outbreaks in northern Jordan" en *Virulence*, 5(5): 601-610.
- Jayasena, D. y C. Jo (2013). "Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review" en *Trends in Food Science & Technology*, 34(2):96-108.
- Kon, K. V. y M. K. Rai (2012). "Plant essential oils and their constituents in coping with multidrug-resistant bacteria" en *Expert Rev Anti Infect Ther*, 10(7): 775-790.
- Langeveld, W. T.; E. J. Veldhuizen y S. A. Burt (2014). "Synergy between essential oil components and antibiotics: a review" en *Crit Rev Microbiol*, 40(1): 76-94.
- Mani, E.; H. S. García y A. López (2012). "Organic acids as antimicrobials to control *Salmonella* in meat and poultry products" en *Food Res Int*, 45(2): 713-720.
- Olaimat, A. N. et al. (2018). "The Use of Malic and Acetic Acids in Washing Solution to Control *Salmonella* spp. on Chicken Breast" en *J Food Sci*, 83(8): 2197-2203.
- Perricone, M. et al. (2015). "Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components" en *Front Microbiol*, 6: 76.
- Possas, A. et al. (2017). "Application of predictive models to assess the influence of thyme essential oil on *Salmonella enteritidis* behaviour during shelf life of ready-to-eat turkey products" en *Int J Food Microbiol*, 240(1): 40-46.
- Quevedo, O.; R. Crozzoli y G. Perichi (2010). "Uso de extractos acuosos y etanólicos de plantas para el control de *Meloidogyne enterolobii* (Nematoda: *tylenchida*)" en *Fitopatol Venez*, 23(2): 43-53.
- SAS. 2013. SAS/STAT User's guide. 9.4, v. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Shakeri, G. et al. (2017). "Modeling of *Salmonella typhimurium* growth under the effects of *Carum copticum* essential oil, temperature, pH and inoculum size" en *Vet Res Forum*, 8(1): 59-65.
- Tan, S. M.; Lee, S. M. y G. A. Dykes (2015). "Acetic acid induces pH independent cellular energy depletion in *Salmonella* entérica" en *Foodborne Pathog Dis*, 3(1):134-139.
- Tarabees, R. et al. (2017). "Isolation and characterization of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* from chicken meat in Egypt" en *J Infect Dev Ctries*, 11(4): 314-319.

- Thung, T. Y. *et al.* (2016). "Prevalence and antibiotic resistance of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* in raw chicken meat at retail markets in Malaysia" en *Poult Sci*, 95(8): 1888-1893.
- Ulusoy, B. *et al.* (2018). "Effect of oregano essential oil and aqueous oregano infusion application on microbiological properties of *Samarella (tsamarella)*, a traditional meat product of Cyprus" en *Foods*, 7(4): 1-9.
- Vergis, J. *et al.* (2015). Essential oils as natural food antimicrobial agents: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 55(10):1320-1323.
- Wallock-Richards, D. *et al.* (2014). "Garlic revisited: antimicrobial activity of allicin-containing garlic extracts against *Burkholderia cepacia* complex" en *PloS one*, 9(12): e112726-e112726.