

Efecto *in vitro* del aceite de aguacate, maíz y olivo y un tratamiento térmico sobre el control significativo de *Listeria monocytogenes*

Trejo-Acosta, A.¹ • Minor-Pérez, H.^{1*}

Palabras clave: actividad antimicrobiana, aceite de vegetales, *Listeria monocytogenes*

Key words: antimicrobial activity, vegetable oil, *Listeria monocytogenes*

Introducción

La combinación de compuestos naturales con actividad antimicrobiana y tratamientos térmicos de subpasteurización (e.g. 55°C/30min) puede contribuir a mejorar el control microbiano de microorganismos [1,2,3] de importancia en la inocuidad en los alimentos.

Una gran cantidad de alimentos procesados o frescos consumidos por el ser humano tienen como componente los lípidos. Éstos tienen diversas funciones tecnológicas como proporcionar una textura, aroma y sabor característicos. En relación al aspecto nutricional proporcionan vitaminas A, D, E y K y ácidos grasos indispensables (que el organismo humano no

puede biosintetizarlos) como el ácido α -linolénico (18:3 n-3) y el ácido linoleico (18:2 n-6) [1,4]. Sin embargo, es poca la información en relación al efecto de los aceites de cadena corta (< 8 átomos de carbono) o media sobre la inhibición de bacterias como *Listeria monocytogenes*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de los aceites de aguacate, maíz y olivo, así como su combinación con un tratamiento térmico de subpasteurización de 55°C sobre la inhibición en un sistema modelo. Se realizó un análisis estadístico con una prueba de ANOVA y Duncan para determinar los tratamientos significativamente diferentes.

1 División de Ingeniería Química y Bioquímica, Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Av. Tecnológico s/n Esq. Av. Carlos Hank González (Av. Central), Col. Valle de Anáhuac, C. P. 55210, Ecatepec de Morelos, Estado de México, México.

* hminor@tese.edu.mx



Metodología

Aceites de estudio.

Los aceites de estudio fueron marcas comerciales, que se adquirieron en la “Central de Abastos” del Municipio de Ecatepec de Morelos, Estado de México. El aceite esencial se filtró con membranas de acetato de celulosa (0.22 µm, Durapore® Membrane Filters Millipore). Estas muestras se almacenaron en frasco ámbar a una temperatura de -20°C.

Listeria monocytogenes NCTC 11994 y condiciones de crecimiento

Listeria monocytogenes NCTC 11994 pertenece a la colección microbiana de la Universidad de Murcia, España. Durante este estudio la cepa se conservó en crioviales a -80°C. La bacteria se creció en medio TSA-YE (Tryptic Soy Broth, Bioxon®, México) suplementado con 0.6% de extracto de levadura para obtener el cultivo de estudio con una concentración inicial aproximada de 8.5 ciclos logarítmicos.

Análisis microbiológico

Se empleó un diseño completamente aleatorizado para evaluar el efecto de las variables fijas: concentración de aceite de aguacate (AA), aceite de maíz (AM) y aceite de olivo (AO) (0%, 2% y 4%), tipo de aceite (AA, AM y AO) y tiempo (0 min, 7.5 min, 15 min, 22.5 min y 30 min). La variable respuesta fue Log UFC/mL de *Listeria monocytogenes*.

El control se realizó en agua estéril. En tubos Eppendorf® estériles se agregó por separado volúmenes del aceite de estudio 900 µL. del cultivo de *Listeria monocytogenes* previamente obtenido se agregó un volumen de 100 µL. Todos los tratamientos se sometieron a agitación a 350 rpm en un vortex (Labnet®, EUA) durante 1 min y posteriormente se mantuvieron en condiciones de calentamiento a 55°C en un baño de temperatura controlada (Polystat Temperature Controller®, Cole-Parmer, EUA) durante los tiempos de estudio. Las cuentas microbianas se realizaron con la técnica de gota [5] en medio de cultivo TSA.

Análisis estadístico

Los resultados se sometieron a una ANOVA y una comparación múltiple de medias con la prueba de Dun-

can, utilizando el paquete estadístico SAS System®, Windows™ Versión 6.12, USA.

Resultados y discusión

Las Tablas 1,2 y 3 muestran los resultados del análisis estadístico de ANOVA para el estudio sobre el control significativo de *Listeria monocytogenes* NCTC 11994 en sistemas modelo de los aceites: AA, AM y AO. En los tres sistemas de estudio se observó una reducción (Figura 1) en algunos tratamientos de estudio de las poblaciones de *Listeria monocytogenes*. En este estudio el modelo lineal propuesto tuvo un efecto significativo ($P < 0.0001$) sobre la variable respuesta (Log UFC/mL de *Listeria monocytogenes* NCTC 11994).

Los modelos describen la influencia de los factores investigados en forma independiente: CAC, TAC y Tiempo (T), así como el efecto de las interacciones (CAC*TAC, CAC*T, TAC*T, CAC*TAC*T). Se observó un efecto significativo de la variable fija CAC y el T, así como de las interacciones CAC*TAC y CAC*TAC*T (Tabla 2). El coeficiente de determinación para el modelo lineal de estudio en las condiciones experimentales evaluadas, indica que el 14.82% de la variación total en la respuesta no puede ser explicado por los parámetros evaluados. Los valores F_0 para los parámetros de cada modelo fueron útiles para explicar el grado de significancia de los efectos de las variables independientes y sus interacciones (Tabla 2).

A la temperatura de 55°C el parámetro que tuvo un mayor efecto significativo fue el tiempo de estudio. El segundo parámetro más significativo fue la CAC. Esto significa que los cambios en CAC y el T, a la temperatura de 55°C tienen un efecto significativo de inhibición sobre *Listeria monocytogenes* NCTC 11994.

Este comportamiento puede ser explicado debido a que conforme la cepa control es expuesta durante mayor tiempo a la temperatura de 55°C posiblemente tenga daño de estructuras celulares como su membrana, lo cual provoca inactivación. La prueba de Duncan (Tabla 3) que hubo una inhibición significativa de *Listeria monocytogenes* a una concentración de 2% y un tiempo de tratamiento térmico de 30 min.

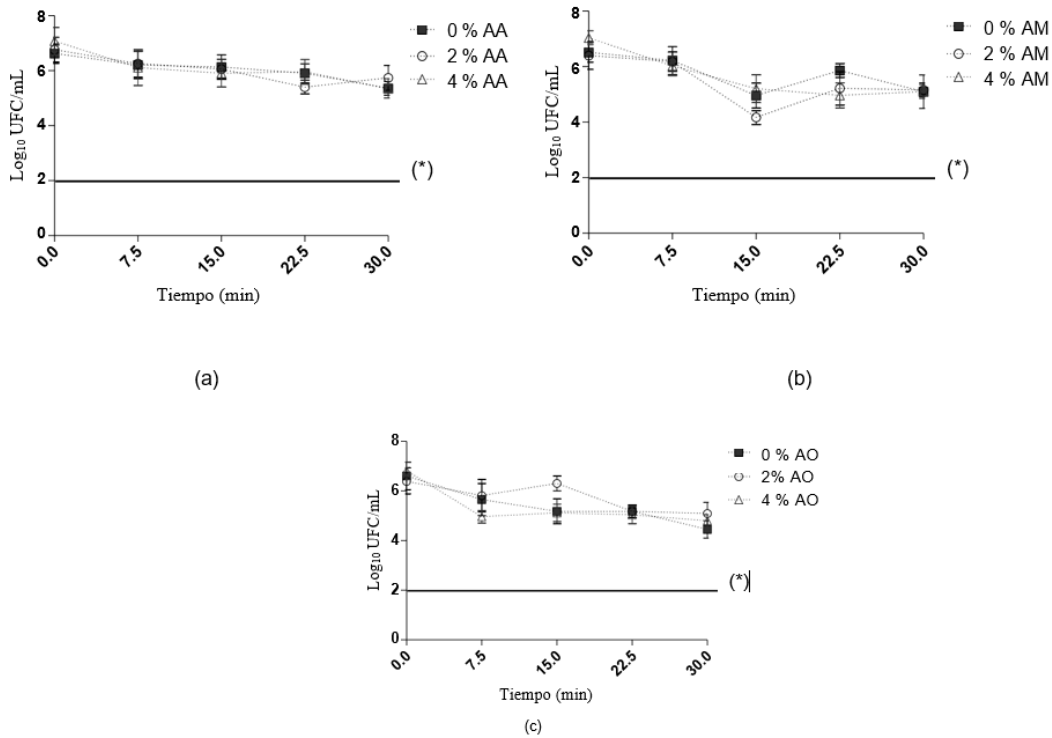


Figura 1. Efecto de la concentración de aceite de aguacate (a), maíz (b) y olivo (c) sobre *Listeria monocytogenes* NCTC 11994 a una temperatura de 55°C.

(*) Límite de detección.

Tabla 1. ANOVA para el efecto de las variables fijas: concentración y tipo de aceite (aguacate, maíz y olivo) y el tiempo sobre la variable respuesta: Log UFC/mL de *Listeria monocytogenes* NCTC 11994 a la temperatura de 55°C.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor de F	Pr > f
Modelo	44	41.94487660	0.95329265	5.99	0.0001
Error	45	7.16055750	0.15912350		
Total	89	49.10543410			

R-Square= 0.854180

*Los valores de "Prob > F" menores que 0.050 indican que los parámetros evaluados son significativos

Tabla 2. ANOVA para el efecto de las variables fijas: concentración de aceite (0%, 2% y 4%), tipo de aceite (aguacate, maíz y olivo) y el tiempo (0 min, 7.5 min, 15 min, 22.5 min y 30 min) sobre la variable respuesta: Log UFC/mL de *Listeria monocytogenes* NCTC 11994 a la temperatura de 55°C.

Fuente de variación	Valor de F	Pr > f
A-Concentración de aceite (%)	6.05	0.0047
B-Tipo de aceite (AA, AM, AO)	0.38	0.6865
C-Tiempo (min)	37.18	0.0001
A*B	1.67	0.1746
A*C	5.50	0.0001
B*C	1.52	0.1769
A*B*C	2.45	0.0094

*Los valores de "Prob > F" menores que 0.050 indican que los parámetros evaluados son significativos

Tabla 3. Prueba de Duncan para la comparación del efecto de la concentración y tipo de aceite y tiempo (min) sobre la variable respuesta de Log UFC/mL *Listeria monocytogenes*

CAC ¹ (0%, 2% y 4%)	Promedio (Log UFC/ mL)	Prueba de Duncan*	TAC ² (AA, AM y AO)	Promedio (Log UFC/ mL)	Prueba de Duncan*	Tiempo (0, 7.5, 15, 22.5 y 30 min)	Promedio (Log UFC/ mL)	Prueba de Duncan*
0 %	5.9956	A	AA	5.8379	A	0 min	6.6975	A
4 %	5.7054	B	AC	5.7828	A	7.5 min	6.023	B
2 %	5.6687	B	AO	5.790	A	15 min	5.5159	C
						22.5 min	5.3656	C
						30 min	5.3583	C

¹ CAC: Concentración de aceite

² TAC: tipo de aceite, AA: aceite de aguacate, AM: aceite de maíz, AO: aceite de olivo

*Medias con la misma letra no son significativamente diferentes con una $\alpha = 0.05$

Conclusión

En las condiciones experimentales evaluadas se encontró una reducción significativa de *Listeria monocytogenes* NCTC 11994 para algunos tratamientos.

No se observó una diferencia significativa por efecto

del tipo de aceite evaluado AA, AM y AO. La mayor reducción de las poblaciones de la bacteria control fue a 2% y los 30 min de tratamiento térmico a 55°C.

Referencias

1. Coronado-Herrera, M., Vega y León, S., Gutiérrez-Tolentino, R., García-Fernández, B. y Díaz-González, G. 2006. Los ácidos grasos omega-3 y omega-6: Nutrición, bioquímica y salud. REB. 25(3):72-96
2. Jay, J. 2011. Microbiología moderna de los alimentos. Capítulo 3. Editorial Acribia, Zaragoza, España
3. Kabara, J.J. y Marshal, D.L. 2005. Medium-Chain Fatty Acids and Esters. En: Antimicrobials in food. Davidson, P.M., Sofos, J.N. y Branen, A.L. (Editores). Tercera Edición. Taylor & Francis
4. Miles, AA; Misra, SS, Irwin, JO (1938 Nov). "The estimation of the bactericidal power of the blood." *The Journal of hygiene*, 38 (6): 732-49