

Estudio del control de *Listeria monocytogenes* en emulsiones modelo aceite/agua adicionadas con bagazo de lima y un tratamiento térmico de subpasteurización

Guillén-Valdes, S.¹ • Marín-Iniesta.F.² • Minor-Pérez, H.^{1*}

Palabras clave: actividad antimicrobiana, lima dulce, *Listeria monocytogenes*

Key words: antimicrobial activity, sweet lime, *Listeria monocytogenes*

Introducción

México es uno de principales productores de frutas cítricas a nivel internacional. Debido a esta condición se generan una gran cantidad de subproductos como el bagazo o la cáscara. La fruta de lima dulce (CITRUS LIMMETA) tiene un aporte importante de compuestos con actividad biológica, e.g. antioxidantes o sustancias con actividad antimicrobiana [1,2]. Algunos estudios indican que los polifenoles con actividad antioxidante presentan efecto bactericida sobre microorganismos como *Escherichia coli* y en general sobre microorganismos coliformes psicrótrofos [1]. *Listeria monocytogenes* es un microorganismo patógeno y psicrótrofo, que no forma esporas [3], es una bacteria ubicua y tiene una resistencia a tratamientos térmi-

cos, mayor a otras bacterias indicadoras [3]. Además, la bacteria puede provocar la contaminación de los alimentos en cualquier etapa de la cadena alimentaria. En este estudio se evaluó el control significativo de *L. monocytogenes* en emulsiones modelo aceite/agua adicionadas de bagazo de lima dulce y sometidas a un proceso térmico de subpasteurización de 55°C/45 min. Se realizó un análisis estadístico con las pruebas de ANOVA y Duncan para determinar los tratamientos significativamente diferentes.

Metodología

Bagazo de lima dulce (BLD).

La lima dulce se sometió a un proceso de lavado y

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

² Grupo de Biotecnología de Alimentos-BTA, Facultad de Veterinaria - Universidad de Murcia, Apartado N° 4021, 30.100 Murcia, España

* hminor@tese.edu.mx



desinfección. Las muestras de subproductos de la fruta de lima dulce (bagazo, cáscara y semilla) se sometieron a un proceso de secado a 40°C durante 48 h en un horno de charolas (Felisa® FE-294AD, México) y se molieron en una licuadora convencional durante 5 min. Se realizó un tamizado (Tamiz, Número 45) hasta alcanzar una tamaño de partícula de 0.42 mm. Las muestras de estudio se guardaron en bolsas estériles de polietileno a una temperatura de -20°C hasta su uso.

***Listeria monocytogenes* NCTC 11994 y condiciones de crecimiento**

L. 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. Ésta se creció en medio TSAYE (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 logarítmico.

Análisis microbiológico

En este estudio se elaboraron emulsiones modelo aceite/agua empleando aceite comercial de olivo virgen extra (AOL). Este aceite se adquirió en la “Central de Abastos de Ecatepec”, Ecatepec de Morelos, Edo. de México, México. Se empleó un diseño completamente aleatorizado para evaluar el efecto de las variables fijas: concentración de AOL (2%, 4% y 6%) y la concentración de bagazo de lima dulce (0 g/mL, 0.025 g/mL y 0.05 g/mL). En los diferentes tratamientos se agregó Tween® 80 al 1% como surfactante. En tubos Eppendorf® estériles se agregaron por separado volúmenes del aceite de estudio (AOL) de 20 µL, 40 µL y 60 µL. Previamente en los tubos Eppendorf® se agregó la muestra de bagazo de lima dulce (BLD). En cada tratamiento se adicionaron diferentes volúmenes de soluciones amortiguadoras de fosfato-citrato a pH 4,6 y 8. En estos tratamientos se adicionó el cultivo de *L. monocytogenes*. 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 [4] en medio de cultivo TSA.

Análisis estadístico

Los resultados se sometieron a una prueba de ANOVA y una comparación múltiple de medias con la prueba de Duncan, utilizando el paquete estadístico SAS System, Windows™ Versión 6.12, USA.

Resultados y discusión

La Tabla 1 muestra los resultados del análisis estadístico de ANOVA para el estudio sobre el control significativo de *L. monocytogenes* en sistemas modelo de emulsiones aceite/agua. En los tres sistemas de estudio a los valores de pH 4, 6 y 8 se observó un efecto altamente significativo del modelo de estudio sobre la variable respuesta.

La Figura 1 muestra el tratamiento a pH 4, se observa una reducción significativa en las poblaciones de *L. monocytogenes* a partir de tiempo de tratamiento térmico a 55°C, de los 15 min (Prueba de Duncan, $P < 0.05$) de estudio para las emulsiones modelo adicionadas de bagazo de lima dulce. En este sistema no se observó un efecto significativo (Prueba de Duncan, $P < 0.05$) de la concentración del aceite de olivo sobre las poblaciones de *L. monocytogenes*. El bagazo de lima tuvo un efecto significativo (prueba de Duncan, $P < 0.05$) sobre la reducción de las poblaciones de *L. monocytogenes*, hasta valores de 2.98 ciclos logarítmicos a una concentración de BLD de 0.05 g/mL. En las emulsiones a pH 6 y 8 se observó una reducción significativa de la concentración de *L. monocytogenes* por efecto de la concentración de aceite de olivo. En el pH 6 se observó un comportamiento similar a los tratamientos de pH 4; hubo un efecto significativo en la reducción de *L. monocytogenes* a valores de 0.05 g/mL de bagazo de lima. La menor población de *L. monocytogenes* se observó en este pH al tiempo de tratamiento de 30 min con valores de 3.759 ciclos logarítmicos. El menor efecto sobre la inhibición de *L. monocytogenes* se observó en el pH 8. El coeficiente de determinación para los tres sistemas de estudio mostraron que para el pH 4, 6 y 8 solo el 1.05%, 3.62% y el 18.23% de la variación en la variable respuesta no es explicado por los parámetros de estudio

Tabla 1. Resumen de la ANOVA para la emulsión modelo de estudio.

Variables fijas	pH	R-Square	Valor de F	P > f
Concentración de aceite de olivo (2%, 4% y 6%)	4	0.9895	97.22	0.0001
Concentración de bagazo de lima (0 g/mL, 0.025 g/mL y 0.05 g/mL)	6	0.9638	27.44	0.0001
Tiempo (0 min, 15 min, 30 min y 45 min)	8	0.8177	4.62	0.0001

VARIABLES FIJAS: concentración de aceite de olivo (2%, 4% y 6%), concentración de bagazo de lima (0 g/mL, 0.025 g/mL y 0.05 g/mL) y el tiempo de (0 min, 15 min, 30 min y 45 min) sobre la variable respuesta: Log UFC/mL de *L. monocytogenes* a 55°C.*

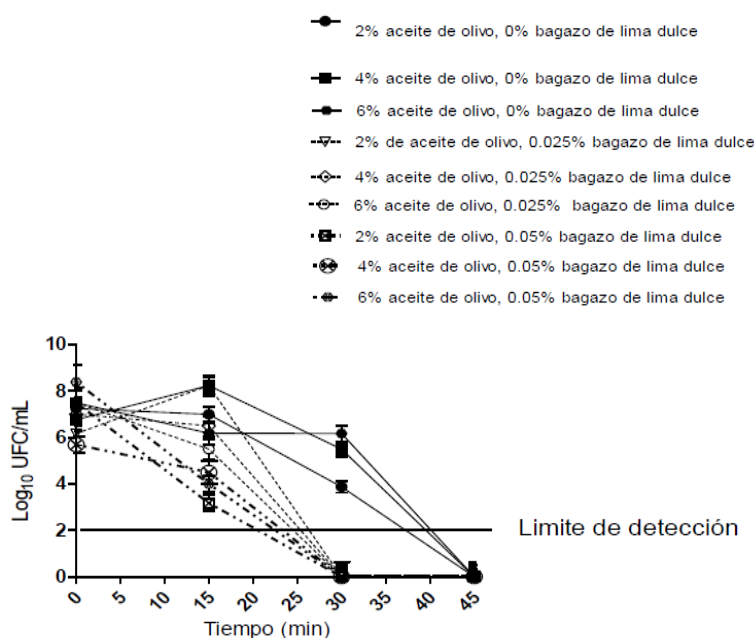


Figura 1. Inhibición de *L. monocytogenes* en una emulsión modelo con aceite de oliva adicionada de 0.0%, 0.025% y 0.05 % de bagazo de lima dulce (*Citrus limmeta*) a pH 4.0 a una temperatura de 55°C.

Conclusión

En las condiciones experimentales evaluadas se encontró una reducción significativa de *L. monocytogenes* NCTC 11994 para algunos tratamientos. Los tratamientos evaluados redujeron significativamente las poblaciones de la bacteria control.

Referencias

- Hall, C.I. 2001. Sources of natural antioxidants: oilseeds, nuts, cereals, legumes, animal products and microbial sources. En: *Antioxidants in food. Practical Applications*. Pokorny, J., Yanishlieva, N. y Gordon, M. (Editores). CRC Woodhead Publishing Limited. Cambridge, Inglaterra.
- Ordoñez-Gómez, E.S., Reátegui-Díaz, D. y Villanueva-Tiburcio, J.E. 2018. Polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y hojas de doce cítricos. *Scientia Agropecuaria*, 9(1):113-121
- ICMSF. 1996. *Microorganismos de los alimentos: características de los patógenos microbianos*. Editorial Acirbia, Zaragoza (España), pp 165-174
- 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.