

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL ORÉGANO MEXICANO (*LIPPIA BERLANDIERI* Schauer) Y DE SU ACEITE ESENCIAL SOBRE CINCO ESPECIES DEL GÉNERO *VIBRIO*

ANTIMICROBIAL EFFECT OF MEXICAN OREGANO (*LIPPIA BERLANDIERI* Schauer) AND ITS ESSENTIAL OIL AGAINST FIVE *VIBRIO* SPECIES

María de la Cruz Paredes-Aguilar^{1*}, María Guadalupe Gastélum-Franco², Ramón Silva-Vázquez³ y Guadalupe Virginia Nevárez-Moorillón²

¹ Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD), Unidad Guaymas. Km. 6.6 Carr. Varadero Nacional. 85480, Guaymas, Sonora, México.

² Universidad Autónoma de Chihuahua. Apdo. Postal 1542-C. 31170, Chihuahua, Chih. México. Tel y Fax: 01 (614) 414-4492. ³ Centro de Investigación de Recursos Naturales Salaices, Municipio de López, Chihuahua, México.

* Autor para correspondencia (vnevare@uach.mx)

RESUMEN

Las nuevas tendencias de la población hacia el consumo de productos naturales han llevado a investigar y desarrollar nuevas formas de conservación, para evitar las intoxicaciones relacionadas con los aditivos químicos. En este trabajo se evaluó el efecto antimicrobiano del orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) y su aceite esencial, sobre *Vibrio alginolyticus*, *V. cholerae* no-01, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*. Se determinaron las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB) del orégano en polvo y de aceite esencial de orégano con diferentes concentraciones de timol y carvacrol, y con dos de estos aceites se elaboraron curvas de muerte a 5 y 35 °C para *V. cholerae* no-01. Se obtuvo un efecto antimicrobiano favorable sobre las cinco especies de *Vibrio*, las cuales no presentaron diferencias significativas entre ellas en las concentraciones inhibitorias y bactericidas de los aceites esenciales. Las concentraciones (CMI y CMB) obtenidas para el orégano fueron de 1.5 a 2.5 y de 100 a 200 mg L⁻¹ para los diferentes aceites esenciales. En relación con las curvas de muerte, a 35 °C se obtuvieron los menores tiempos de disminución en células viables para *V. cholerae* no-01. Al evaluar dos de los aceites esenciales a 35 °C se lograron disminuir las poblaciones hasta siete ciclos logarítmicos en sólo 30 min, efecto logrado también a 5 °C pero en un periodo de 24 a 144 h.

Palabras clave: *Lippia berlandieri*, aceites esenciales, antimicrobianos, *Vibrio*.

SUMMARY

New consumer trends towards consumption of natural products have driven research and development of novel forms of food preservation, in order to prevent poisoning due to chemical additives. The aim of this work was to assess the antimicrobial effect of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) and its essential oil against *Vibrio alginolyticus*, *V. cholerae* no-01, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus*. The antimicrobial effect was determined by the minimal inhibitory concentration and minimal bactericidal concentration (MIC and MBC) for oregano and its essential oil, with different concentrations of thymol and carvacrol. Death kinetics for *V. cholerae* no-01 were also carried out at 5 and 35 °C for two of the essential oils. Data

show a favorable antimicrobial effect of oregano on all five species of *Vibrio*, which did not show significant differences for MIC and MBC values, at concentrations of 1.5 to 2.5 % of oregano, and of 100-200 mg L⁻¹ of the essential oil. Regarding death kinetics, 35 °C produced the fastest inactivation time observed for *V. cholerae* no-01. At this temperature, addition of oregano essential oil diminished up to 7 logarithmic cycles in only 30 minutes; this effect was also obtained at 5 °C, but over a 24 to 144 h period.

Index words: *Lippia berlandieri*, antimicrobial, essential oil, *Vibrio*.

INTRODUCCIÓN

Uno de los principales problemas de los procesadores de alimentos a través de los años, ha sido la conservación de los mismos (Chorianopoulos y Kalpoutzakis, 2004; Mejlholm y Dalgaard, 2002). Actualmente, los consumidores demandan productos naturales porque relacionan los compuestos químicos con alergias y enfermedades diversas. Con base en esto, ha aumentado el interés en la búsqueda de nuevas formas para la conservación de los alimentos como productos naturales, mediante el uso de compuestos antimicrobianos en lugar de conservadores sintéticos (Delaquis *et al.*, 2002; Chorianopoulos y Kalpoutzakis, 2004; Dadalioğlu y Evrendilek, 2004; Santoyo *et al.*, 2006).

Muchas especies o hierbas han sido usadas en alimentos por sus propiedades antimicrobianas (Lin *et al.*, 2006; Ousalah *et al.*, 2006; Santoyo *et al.*, 2006). El orégano es una planta que crece en forma silvestre en 24 estados de la República Mexicana. La especie *Lippia berlandieri* Schauer es la más importante desde el punto de vista económico y el Estado de Chihuahua se encuentra entre los principales productores. El uso más frecuente de la especie en México es como condimento alimenticio, y en menor medida en la

industria farmacéutica (Huerta, 1997; Silva, 2005). El orégano y sus derivados han sido estudiados por sus efectos antimicrobianos; en particular, esta efectividad se atribuye a dos compuestos presentes en su aceite esencial, carvacrol y timol, los cuales inhiben a los microorganismos patógenos (Aligiannis *et al.*, 2001; Lambert *et al.*, 2001; Arcila *et al.*, 2004; Dadalioglu y Evrendilek, 2004; Oussalah *et al.*, 2006; Santoyo *et al.*, 2006; Yano *et al.*, 2006).

La actividad antimicrobiana depende de la composición química del aceite esencial de orégano, la cual está relacionada con la especie de orégano, condiciones geográficas, periodos de cosecha y método de extracción (Hazzit *et al.*, 2006; Santoyo *et al.*, 2006). Son escasos los estudios realizados con antimicrobianos naturales sobre el género *Vibrio*, que incluye diversas especies patogénicas para el hombre, entre las que destacan *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. mimicus* y *V. alginolyticus* (Kaysner y DePaola, 2004; Thompson *et al.*, 2004; Yano *et al.*, 2006).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto antimicrobiano del orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) y aceites esenciales con diferentes proporciones de timol y carvacrol, sobre cinco especies de *Vibrio*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Orégano. Se utilizaron plantas de orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) cultivadas en la región de Salices, municipio de López, Chihuahua, México, de las cuales se emplearon sólo las hojas después de ser pulverizadas completamente en un mortero.

Aceites. Para obtener el aceite esencial del orégano mexicano se hizo una hidrodestilación de las hojas secas de orégano, con un equipo tipo Clevenger que se mantuvo en operación por 4 h, periodo en el cual el aceite se separó por densidad en un embudo de separación. Con la finalidad de obtener fracciones con concentraciones variadas de timol y carvacrol, el aceite esencial obtenido se colocó en un matraz acoplado a una columna de destilación, y se aplicó calor hasta ebullición; la destilación procedió hasta que quedó aproximadamente 30 % (v/v) del volumen inicial. El destilado extraído se sometió de nuevo a destilación bajo las mismas condiciones, y se obtuvieron así tres fracciones con diferentes proporciones de timol y carvacrol, como se muestra en el Cuadro 1.

La caracterización de los aceites se hizo en un cromatógrafo de gases (Perkin Elmer, Modelo Clarius 500. Massachusetts, EE. UU.), con helio como gas acarreador, provisto de un detector FID a una temperatura de 250 °C, y una columna capilar SPB-1 de 30 mm × 0.25 mm (Supelco, Bellefonte, PA, EE. UU.), con un espesor de película de 0.25 µm (diámetro interno). El punto de inyección se mantuvo a 265 °C, con una línea de transferencia de 225 °C, que se mantu-

vo constante por un tiempo total de 30 min. Se inyectó 1 µL de los aceites de orégano mexicano y las fracciones, y se utilizaron estándares de timol y carvacrol (Sigma, México) para determinar los tiempos de retención de los analitos. La cantidad se reporta como porcentaje de área total del cromatograma. Para el presente trabajo se prepararon soluciones etanólicas a 5 % (v/v) de los diferentes aceites, que se esterilizaron por filtración a través de membranas de 0.22 µm.

Cuadro 1. Características de identificación de los aceites y fracciones de destilación de orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer), y su contenido de dos componentes

Clave de identificación de la fracción	Tipo de aceite	Carvacrol (%)	Timol (%)
F1	Fracción de destilación	81	3
F2	Fracción de destilación	82	4
F3	Aceite esencial completo	77	6
F4	Aceite esencial completo	23	48
F5	Fracción de destilación	26	64

Cultivos. Las cepas de *Vibrio* evaluadas fueron *V. alginolyticus* 516, *V. mimicus* 602, *V. parahaemolyticus* 320 y *V. vulnificus* 610, referenciadas a la Colección de Microorganismos de Importancia en Acuicultura (CAIM) de la Unidad Mazatlán del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) en Sinaloa, México; así como *V. cholerae* no-01, con referencia al Laboratorio Estatal de Salud del Estado de Sonora, México. Estas cepas bacterianas fueron proporcionadas por la Unidad Guaymas del CIAD. Durante toda la etapa experimental se utilizaron inóculos bacterianos a una concentración de 1.5×10^8 UFC mL⁻¹, preparados para cada corrida experimental en caldo soya tripticaseína 2% NaCl (CST sal).

Determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB). Para el orégano en polvo se probaron las concentraciones de 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 y 3.0 % (p/v) y de 50, 100, 200, 300, 400, 500 y 600 mg L⁻¹ para cada aceite. A cada concentración se le adicionaron 0.5 mL del cultivo de cada especie de *Vibrio* y los tubos se incubaron a 35 °C por 24 h bajo condiciones de agitación (125 rpm). Posteriormente, los tubos se examinaron visualmente para ver si presentaban turbidez en el medio de prueba. La menor concentración en la que no se observó turbidez fue establecida como la CMI de cada tratamiento. A partir de las concentraciones que no presentaron turbidez en los tubos de cultivo (CMI), se inocularon placas con agar soya tripticaseína 2% NaCl (AST sal) mediante estría, y se incubaron a 35 °C por 24 h. La menor concentración en la cual las placas no presentaron crecimiento

bacteriano, fue determinada como CMB para cada tratamiento. Todos los tratamientos se hicieron por triplicado en tubos de cultivo con CST sal, y a la par de las muestras se corrió un blanco testigo del medio de cultivo, más otro del medio de cultivo con el inóculo bacteriano como testigo positivo (Hammer *et al.*, 1999).

Curvas de inhibición/muerte por presencia de orégano. Se usaron dos concentraciones (100 y 200 mg L⁻¹) de dos de los aceites esenciales de orégano mexicano, a 5 y 35 °C. Se inocularon matraces que contenían un volumen determinado de CST sal y una alícuota del compuesto a probar, para obtener la concentración final establecida. Los matraces fueron incubados a las temperaturas correspondientes y a diferentes tiempos se tomaron alícuotas de 1 mL para el conteo bacteriano (Kaysner y DePaola, 2004). Se hicieron cinco repeticiones por triplicado para cada condición, con un blanco testigo del medio de cultivo y otro del medio de cultivo con el inóculo bacteriano como testigo positivo. Un primer conteo se hizo al tiempo cero para obtener la concentración inicial de la mezcla, como referencia para cada tratamiento. Los periodos en los cuales se hicieron los conteos bacterianos posteriores fueron variables, dependientes de la temperatura de incubación, del aceite esencial estudiado y de la concentración analizada. Los resultados se expresaron como log UFC mL⁻¹ en cada medición (Ciafardini y Zullo, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto inhibitorio y bactericida del orégano

Orégano en polvo. En el Cuadro 2 se muestran los resultados de las concentraciones mínimas obtenidas para el orégano preparado en polvo, tanto para inhibir como para causar la muerte de bacterias. En general, estos resultados

indican que el polvo de orégano tiene efecto bactericida sobre estas especies del género *Vibrio*, ya que en cuatro de las cinco especies (*V. cholerae* no-01, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*), los valores de CMI y CMB fueron similares. Yano *et al.* (2006) obtuvieron una CMI de 0.5 % de orégano (*Origanum vulgare*) sobre *V. parahaemolyticus*, lo que demuestra que esta especie de orégano es más efectiva que el orégano mexicano en las cinco especies de *Vibrio* estudiadas en este trabajo (1.5-2.5 %), pero a temperaturas de 30 y 5 °C que no son óptimas para el desarrollo de esta bacteria.

Cuadro 2. Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) y bactericidas (CMB) de orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) en polvo, para cinco especies de *Vibrio* (n=3).

Especie de <i>Vibrio</i>	Orégano (%)	
	CMI	CMB
<i>V. alginolyticus</i> 516	1.5	2.5
<i>V. cholerae</i> no-01	2.5	2.5
<i>V. mimicus</i> 602	2.5	2.5
<i>V. parahaemolyticus</i> 320	2.5	2.5
<i>V. vulnificus</i> 610	2.0	2.0

Aceite de orégano. En el Cuadro 3 se presentan los resultados de CMI y CMB para los cinco diferentes aceites del orégano mexicano sobre las especies de *Vibrio* evaluadas. Los valores de CMI-CMB para los aceites fueron de 100-200 mg L⁻¹ para las cinco especies de *Vibrio*, y no hubo diferencias entre estas dos determinaciones, pero sí las hubo para el aceite F1 con respecto a los otros cuatro aceites en cuanto a la CMI, diferencias que no se observaron en las CMB. Estos valores indican que el aceite F1 posee menor efectividad inhibitoria, por necesitar el doble de concentración para lograr este efecto, quizá debido a la composición de compuestos diferentes al carvacrol y al timol, puesto que la proporción de estos últimos es similar en los aceites F1 y F2.

Cuadro 3. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y bactericida (CMB) de cinco aceites de orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer), sobre cinco especies de *Vibrio* (n=3).

Especie de <i>Vibrio</i>	CMI (mg L ⁻¹)				
	F1 *	F2	F3	F4	F5
<i>V. alginolyticus</i> 516	100	100	100	100	100
<i>V. cholerae</i> no-01	200	100	100	100	100
<i>V. mimicus</i> 602	100	100	100	100	100
<i>V. parahaemolyticus</i> 320	200	100	100	100	100
<i>V. vulnificus</i> 610	200	100	100	100	100
Especie de <i>Vibrio</i>	CMB (mg L ⁻¹)				
	F1	F2	F3	F4	F5
<i>V. alginolyticus</i> 516	100	100	100	100	100
<i>V. cholerae</i> no-01	200	100	100	100	100
<i>V. mimicus</i> 602	100	100	100	100	200
<i>V. parahaemolyticus</i> 320	200	200	200	200	100
<i>V. vulnificus</i> 610	200	100	100	100	100

*F1 a F5 corresponde a la identificación de los diferentes aceites o fracciones utilizadas, con las características descritas en el Cuadro 1.

Se han establecido valores de CMI para el aceite esencial de orégano de entre 280 y 1270 mg L⁻¹ (Arcila *et al.*, 2004). Aligiannis *et al.* (2001) obtuvieron una CMI de 280 mg L⁻¹ para *Escherichia coli*, con un aceite obtenido de otra especie de orégano (*Origanum scabrum*). Lambert *et al.* (2001) reportaron valores de CMI de 575 y de 1648 mg L⁻¹ para *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* respectivamente, que son concentraciones muy superiores a las reportadas para *Vibrio* en este trabajo (100 a 200 mg L⁻¹). Aligiannis *et al.* (2001) también obtuvieron concentraciones mayores para *Pseudomonas aeruginosa* (1270 mg L⁻¹) y para *Enterobacter cloacae* (1120 mg L⁻¹). Con respecto a valores de CMB, Santoyo *et al.* (2006) obtuvieron valores de 750 mg L⁻¹ para *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* y de 1530 mg L⁻¹ para *Pseudomonas aeruginosa* al utilizar la fracción de carvacrol obtenida a partir de orégano español (*Origanum vulgare*). Estas concentraciones fueron mayores que las obtenidas en este trabajo para las cinco especies de *Vibrio*, donde en tres de los aceites esenciales (F1, F2 y F3) el mayor componente fue carvacrol. Estos resultados también permiten establecer una mayor susceptibilidad de *Vibrio* en comparación con otros microorganismos.

Sobre el género *Vibrio*, Kim *et al.* (1995) utilizaron carvacrol a 5 y 10 %, y obtuvieron efecto inhibitorio sobre diferentes bacterias. A 250 mg L⁻¹ este compuesto tuvo un efecto letal sobre *V. vulnificus*, bacteria que mostró una mayor susceptibilidad que *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes*. El aceite esencial de *Lantana achyranthifolia*, que pertenece a la misma familia que el orégano mexicano (*Verbenaceae*), tuvo un efecto inhibitorio (CMI) de 500 mg L⁻¹ y un efecto bactericida (CMB) de 750 mg L⁻¹ sobre *V. cholerae* no-01 (Hernández *et al.*, 2005). Estos resultados indican que los aceites esenciales de orégano mexicano aquí utilizados sobre varias especies de *Vibrio*, entre ellas *Vibrio cholerae* no-01, tienen mayor efecto antimicrobiano ya que requirió menores concentraciones (100 a 200 mg L⁻¹) para lograr un efecto inhibitorio y bactericida.

Esta efectividad antimicrobiana tan favorable podría marcar la pauta para evaluar estos compuestos, ya sea bajo diferentes condiciones o bajo diferentes matrices, que pudieran establecer su aplicabilidad a nivel industrial (acuicultura, agricultura, plantas procesadoras de alimentos, etc.).

Curvas de inhibición/muerte por acción del aceite esencial de orégano mexicano

Con base en el efecto antimicrobiano del aceite esencial de orégano, se establecieron las condiciones para esta etapa experimental. Como no hubo diferencias significativas entre las cinco especies de *Vibrio*, se procedió a utilizar solamente la cepa de *V. cholerae* no-01 en la elaboración de las curvas, por ser la de mayor importancia epidemiológica. Las curvas

se evaluaron a 35 °C, temperatura óptima para el desarrollo de *Vibrio* (Kaysner y DePaola, 2004), y a 5 °C por ser una temperatura de refrigeración común para muchos alimentos. De esta forma se buscó determinar el efecto de la temperatura sobre el desarrollo bacteriano, además del efecto de los diferentes aceites. Con respecto a los aceites, como en la etapa anterior la fracción F1 resultó ser diferente a las otras cuatro fracciones, se optó por utilizarla en las cinéticas, así como el aceite F5 en representación de esos cuatro aceites. Se probaron las concentraciones a 100 y 200 mg L⁻¹, por ser los valores inhibitorios y bactericidas.

Evaluación a 35 °C. La mayor efectividad de los aceites fue a 200 y 100 mg L⁻¹ para el aceite F5 (Figura 1), ya que produjo un efecto bactericida desde los 10 min de evaluación. Específicamente, a los 20 min ya no se detectó cuenta bacteriana viable para las concentraciones de 200 mg L⁻¹, ni tampoco a 30 min para la fracción 5 a 100 mg L⁻¹, con lo que se logró una reducción aproximada de siete ciclos logarítmicos para estos tres tratamientos. También se observó que F1 a 200 mg L⁻¹, provocó una reducción de 4.5 ciclos logarítmicos de la bacteria solamente al contacto, efecto muy favorable para su aplicación industrial como desinfectante.

En otros estudios también se ha logrado un buen efecto bactericida a 37 °C sobre *V. cholerae* no-01, ya que con aceite esencial de *Lantana achyranthifolia* a 500 mg L⁻¹, se redujo la población en seis ciclos logarítmicos en 8 h (Hernández *et al.*, 2005). También se han logrado disminuir seis ciclos logarítmicos de *V. vulnificus* en menos de 6 h con carvacrol a 100 mg L⁻¹ (Kim *et al.*, 1995), y una reducción de ocho ciclos logarítmicos de *Escherichia coli* en 48 h con aceite de orégano turco a 50 mg L⁻¹ (Dadalioglu y Evrendilek, 2004). Sin embargo, tales efectividades fueron a tiempos mayores que los requeridos en este trabajo (10 min) con los aceites de orégano a 200 mg L⁻¹ sobre *V. cholerae* no-01. Caillet *et al.* (2006) también lograron disminuir casi siete ciclos logarítmicos de *Listeria monocytogenes* en zanahoria (*Daucus carota* L.), con aceite esencial de orégano español a 5000 mg L⁻¹ en combinación con irradiación, por lo que esta efectividad puede considerarse menor a la obtenida en el presente estudio, ya que se utilizó la irradiación como tecnología de barreras en combinación con el aceite esencial.

El aceite F1 a 100 mg L⁻¹ ejerció un efecto inhibitorio parcial, ya que en las primeras 12 h de tratamiento se lograron reducir menos de dos ciclos logarítmicos. A partir de este tiempo se midió un aumento de la población bacteriana, para que finalmente a las 72 h se tuviera una concentración bacteriana mayor (1.3×10⁹ UFC mL⁻¹) que la inicial (9.3×10⁷ UFC mL⁻¹), comportamiento semejante al del testigo positivo.

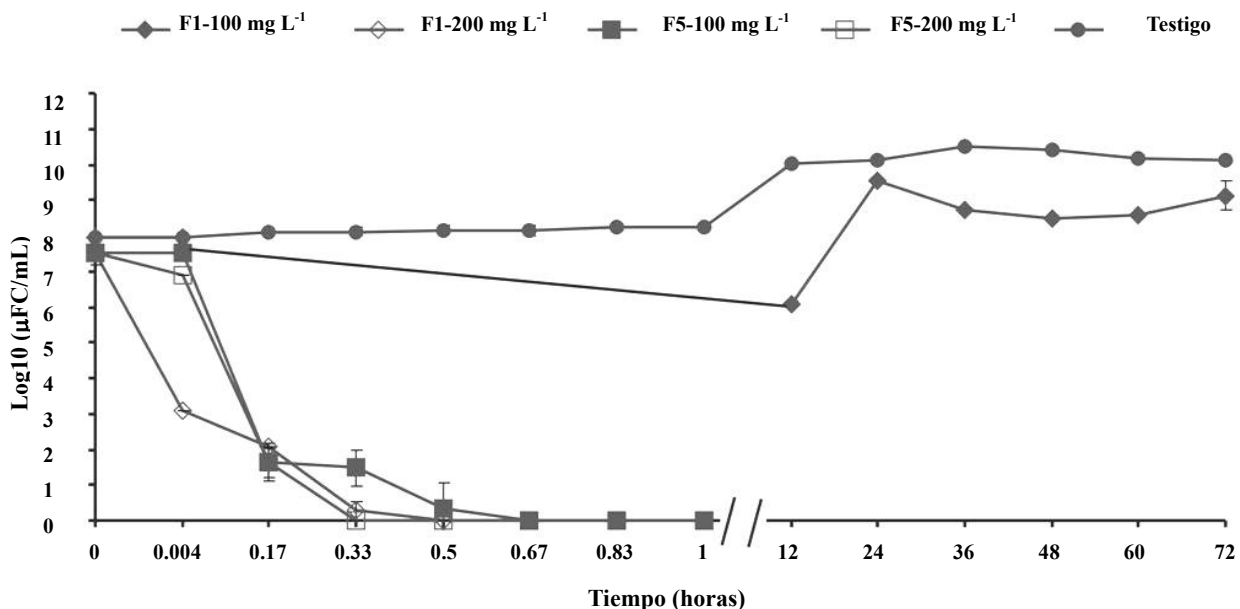


Figura 1. Curvas de muerte por presencia de dos fracciones de destilación (F1 y F5) de aceite de orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) en concentraciones de 100 y 200 mg L⁻¹, sobre *V. cholerae* no-01 a 35 °C. Se presenta el promedio y la desviación estándar (n=5).

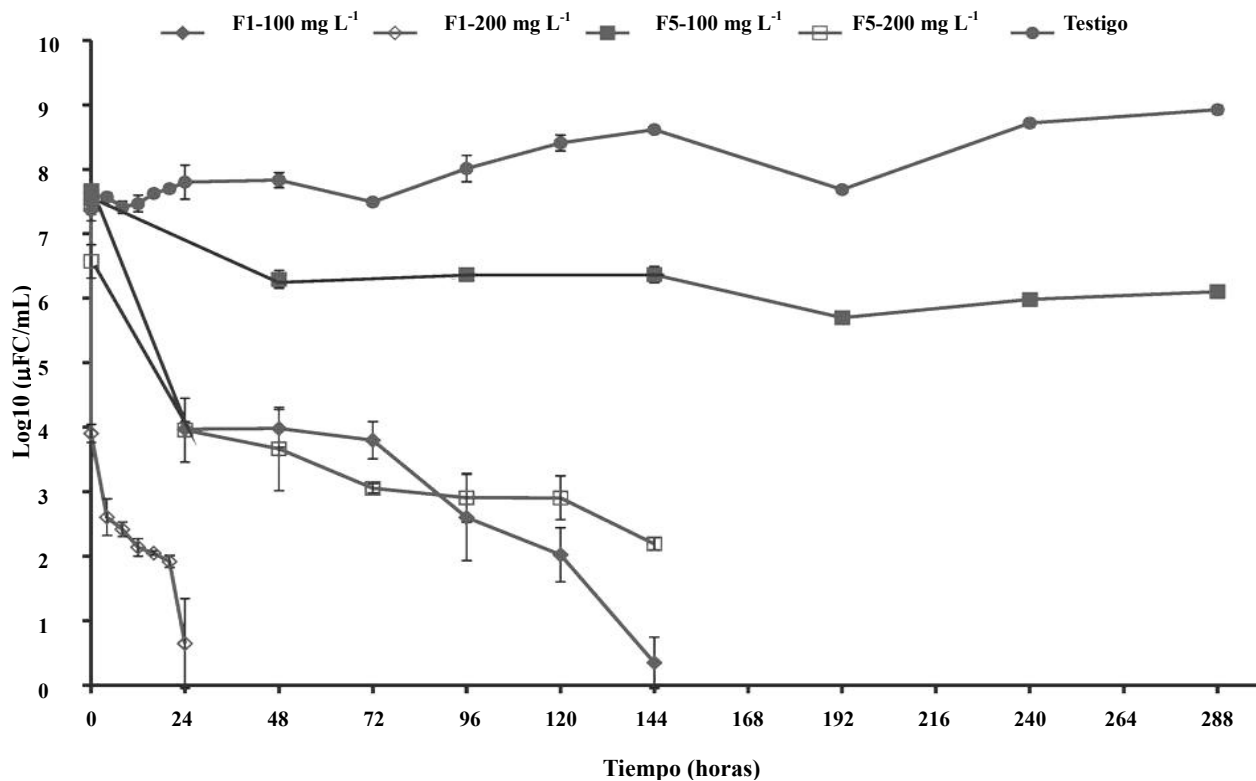


Figura 2. Curvas de muerte por presencia de dos fracciones de destilación (F1 y F5) de aceite de orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer) en concentraciones de 100 y 200 mg L⁻¹, sobre *V. cholerae* no-01 a 5 °C. Se presenta el promedio y la desviación estándar (n=5).

Evaluación a 5 °C. A esta temperatura el aceite F1 a 200 mg L⁻¹ logró el mejor efecto bactericida con una reducción de siete ciclos logarítmicos en 24 h (Figura 2), efecto también logrado a 35 °C pero en sólo 20 min de tratamiento. A 100 mg L⁻¹, F1 también logró una reducción de siete ciclos logarítmicos pero en un tiempo de 144 h (6 d). Con el aceite F5 a 100 mg L⁻¹ se obtuvo sólo un efecto inhibitorio sobre *V. cholerae* no-01, con una reducción de 1.4 ciclos logarítmicos en los 12 d (288 h) de evaluación, lo cual evidencia que a 5 °C se afecta la efectividad de este aceite a 100 mg L⁻¹, ya que a 35 °C (Figura 1) se logra efectividad bactericida a los 40 min de tratamiento. Con F5 a 200 mg L⁻¹ se lograron reducir aproximadamente 4.4 ciclos logarítmicos en 6 d, efectividad menor que la que se obtuvo a 35 °C donde se redujeron siete ciclos logarítmicos en sólo 20 min. También en este caso la disminución de la temperatura afectó la efectividad antimicrobiana, lo cual no ocurrió en el trabajo realizado por Yano *et al.* (2006), en el cual se logró el mismo efecto antimicrobiano (disminución de tres ciclos logarítmicos) sobre *V. parahaemolyticus* al utilizar el orégano español a 5 y 30 °C en 24 h de incubación.

Sólo se tienen resultados de curvas de muerte por causas diferentes al tratamiento térmico, al utilizar aceites esenciales en matrices alimentarias a bajas temperaturas. Draughon (2004) reportó que se redujo la población (sin especificar cantidad) de bacterias aeróbicas, de bacterias ácido lácticas y de *Listeria monocytogenes* con aceite esencial de orégano a 8000 mg L⁻¹ en carnes almacenadas a 5 °C. En esas mismas condiciones, Skandamis *et al.* (2002) lograron una reducción de 1.6 ciclos logarítmicos de *Salmonella typhimurium* en 8 d de almacenamiento; en cambio, Mejilholm y Dalgaard (2002) no obtuvieron efectos favorables sobre *Photobacterium phosphoreum* al utilizar un aceite de orégano a 500 mg L⁻¹ en filetes de pescado almacenados a 2 °C durante 26 d, ya que hubo un aumento de cinco ciclos logarítmicos. A esta baja temperatura, el desarrollo de *V. cholerae* no-01 (testigo positivo) resultó inhibido, pues sólo hubo un aumento de 1.3 ciclos logarítmicos en 288 h de incubación, comportamiento que concuerda con Borroto (1998) quien observó que el desarrollo de *Vibrio* se inhibe a temperaturas menores de 5 °C.

CONCLUSIONES

Los resultados de CMI y CMB obtenidos indican que el efecto antimicrobiano del orégano mexicano y de sus aceites esenciales, fue bactericida más que inhibitorio sobre las cinco especies de *Vibrio* analizadas en este estudio. A 35 °C los aceites de orégano presentaron una mejor efectividad antimicrobiana, ya que lograron reducir hasta siete ciclos logarítmicos en 30 min, efectividad que también se logró a 5 °C pero con tiempos mayores.

Estos resultados evidencian la factibilidad de explotación y aplicación del orégano mexicano y de sus aceites que

podrían utilizarse como aditivos o conservadores, principalmente en alimentos o productos donde el olor y el sabor del orégano no influyan negativamente en sus propiedades sensoriales. Los aceites también podrían utilizarse como desinfectantes industriales, quizá seguidos de un enjuague para eliminar los residuos del compuesto, los cuales podrían proporcionar alguna característica sensorial a los productos que entren en contacto con las superficies desinfectadas.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Lorena Noriega y a la M.C. Lizbeth K. Rivero Montes por su apoyo para la caracterización de las cepas de *Vibrio*. El presente trabajo se realizó con apoyo financiero parcial del proyecto CONACYT-CONAFOR-2004-CO1-035.

BIBLIOGRAFÍA

- Alianni N, B Kalputzakis, S Mitaku, I B Chinou (2001) Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two origanum species. *J. Agric. Food Chem.* 49:4168-4170.
- Arcila L C C, G Loarca, S Lecona, E González (2004) El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Arch. Latinoam. Nutr.* 54:227-238.
- Borroto R J (1998) Supervivencia de *Vibrio cholerae* 01 en agua dulce superficial y cólera endémico: una hipótesis geocológica. *Rev. Panam. Salud Públ.* 4:371-374.
- Chorianopoulos N, E Kalpoutzakis (2004) Essential oils of satoreja, origanum, and thymus species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 52:8261-8267.
- Caillet S, M Millette, M Turgis, S Salmieri, M Lacroix (2006) Influence of antimicrobial compounds and modified atmosphere packaging on radiation sensitivity of *Listeria monocytogenes* present in ready-to-use carrots (*Daucus carota*). *J. Food Protect.* 69:221-227.
- Ciafardini G, B A Zullo (2002) Survival of micro-organisms in extra virgin olive oil during storage. *Food Microbiol.* 19:105-109.
- Dadaloğlu I, G A Evrendilek (2004) Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils or turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *J. Agric. Food Chem.* 52:8255-8260.
- Delaquis P J, K Stanich, B Girard, G Mazza (2002) Antimicrobial activity of individual and mixed fraction of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *J. Food Microbiol.* 74:101-109.
- Draughon F A (2004) Use of botanicals as biopreservatives in foods. *Food Technol.* 58:20-28.
- Hammer K A, C F Carson, T V Riley (1999) Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.* 86:985-990.
- Hazzit M, A Baaliouamer, M L Faleiro, M G Miguel (2006) Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *J. Agric. Food Chem.* 54:6314-6321.
- Hernández T, M Canales, J G Ávila, A M García, A Martínez, J Caballero, A Romo de Vivar, R Lira (2005) Composition and antibacterial activity of essential oil of *Lantana achyranthifolia* Desf. (*Verbenaceae*). *J. Ethnopharm.* 96:551-554.
- Huerta C (1997) Orégano mexicano: Oro vegetal. *Biodiversitas* 15:8-13.
- Kaysner C A, A DePaola (2004) *Bacteriological Analytical Manual* Online. Food and Drug Administration. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-9.html> (consultada, 4 de mayo, 2007).

- Kim, J M, M R Marshall, J A Cornell, J F Preston, C I Wei (1995)** Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and on fish cubes. *J. Food Sci.* 60:1364-1368.
- Lambert R J W, P N Skandamis, P J Coote, G J E Nychas (2001)** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91:453-462.
- Lin Y T, Y I Know, R G Labbe, K Shetty (2006)** Inhibition of *Helicobacter pylori* and associated urease by oregano and cranberry phytochemical synergies. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:8558-8564.
- Mejlholm O, P Dalgaard (2002)** Antimicrobial effect of essential oils on the seafood spoilage micro-organism *Photobacterium phosphoreum* in liquid media and fish products. *Lett. Appl. Microbiol.* 34: 27-31.
- Oussalah M, S Caillet, M Lacoix (2006)** Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *J. Food Protect.* 69:1046-1055
- Santoyo, S, S Cavero, L Jaime, E Ibáñez, F J Señorans, G Reglero (2006)** Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with antimicrobial activity from *Origanum vulgare* L.: Determination of optimal extraction parameters. *J. Food Protect.* 69:369-375.
- Silva V R (2005)** El orégano (*Lippia berlandierin Schauer*): Una alternativa agroindustrial para las zonas áridas y semiáridas de México. *In: Orégano: Aprovechamiento, Cultivo e Industrialización en México.* F Gómez, R Almeida, M Béjar, G V Nevárez, M A Ruiz (eds). 2a Reunión Nacional sobre Orégano. Salta, Chihuahua, México, 25 y 26 de febrero del 2005. Coord. Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, UACH. pp: 1-10.
- Skandamis P, E Tsigarida, J E Nychas (2002)** The effect of oregano essential oil on survival/death of *Salmonella typhimurium* in meat stored at 5°C under aerobic, VP/MAP conditions. *Food Microbiol.* 19:97-103.
- Thompson F L, I Tetsuya, J Swings (2004)** Biodiversity of *Vibrios*. *Microbiol. Mol. Biol. Revu.* 68:403-431.
- Yano Y, M Satomi, H Oikawa (2006)** Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *Internatl. J. Food Microbiol.* 111:6-11.