



***UTILIZACIÓN DEL ACEITE DE ORÉGANO COMO BIOCONSERVANTE EN
TRUCHA***

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ D.C., 08 DE MAYO DE 2026



***UTILIZACIÓN DEL ACEITE DE ORÉGANO COMO BIOCONSERVANTE EN
TRUCHA***

ANGIE STEPHANIA RUIZ ACOSTA

PATRICIA CIFUENTES PRIETO

Docente Facultad de Ciencias de la Salud

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ D.C., 08 DE MAYO 2026



**UTILIZACIÓN DEL ACEITE DE ORÉGANO COMO BIOCONSERVANTE EN
TRUCHA**

APROBADA: _____

JURADOS: _____

ASESORA: Patricia Cifuentes Prieto

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

TRABAJO DE GRADO

BOGOTÁ D.C., 08 DE MAYO DE 2026

DEDICATORIA

Es un honor para mí dedicar y expresar mi más profundo agradecimiento a todas las personas que han sido parte fundamental de este viaje en mi vida académica.

En primer lugar quiero agradecer a mi familia cuyo amor y apoyo incondicional han sido de esperanza y fortaleza en cada etapa de mi vida.

A la memoria de mi abuelo que a pesar de no estar físicamente en este camino, su presencia me acompañó en cada paso que di. Te llevé siempre en mis pensamientos, en mi corazón y en mis sueños. Has sido una fuente silenciosa que me impulsó a seguir, a no rendirme a querer ser mejor cada día, este logro y esfuerzo también es para él.

Finalmente quiero extender mi gratitud a todas las personas que han estado a mi lado durante este proceso, cada uno de ustedes ha dejado una huella en mi vida y en mi carrera profesional, ya que han contribuido a este logro de manera que jamás podré expresar completamente.

AGRADECIMIENTOS

A mis profesores y doctores que con su sabiduría y paciencia me enseñaron, corrigieron y guiaron a través de este paso por la universidad y quienes dieron todo su esfuerzo con la intención de hacernos buenos profesionales, pero sobre todo, buenas personas.

A mis amigas, por ser el refugio en los momentos de incertidumbre, gracias a todos ellos por su paciencia, por escucharme y por recordarme que siempre hay un motivo para sonreír, su amistad ha sido una luz que me ha guiado en este proceso y que siempre llevaré en mi corazón

Finalmente, un agradecimiento especial a la profesora Patricia Cifuentes por su dedicación, orientación y confianza en mis capacidades, pues con su apoyo logramos cumplir esta meta.

A todos ustedes, nuestro más sincero agradecimiento. Sin su apoyo, este logro no habría sido posible.

TABLA DE CONTENIDO	Pág
Resumen.....	8
Objetivos.....	9
Introducción.....	10
1. Antecedentes.....	11
2. Marco Referencial.....	12
2.1 Marco teórico.....	12
2.2 Marco conceptual.....	15
2.3 Marco legal.....	15
3. Diseño metodológico.....	16
3.1 Universo, población, muestra.....	16
3.2 Hipótesis, variables e indicadores	16
3.3 Técnicas y procedimientos	16
3.4 Metodología.....	16
3.5 Determinación de la CMI del aceite de orégano frente a las cepas ATCC.....	18
3.6 Preparación de las muestras de los filetes de trucha con y sin tratamiento para el análisis microbiológico.....	19
3.7 Determinación de la calidad microbiológica de los filetes de la trucha arcoíris con y sin tratamiento con AEO.....	19
3.8 Recuento de los microorganismos mesófilos aerobios.....	20
NMP de coliformes totales.....	20
3.9 NMP de coliformes fecales.....	20
Recuento de Salmonella spp.....	20
Determinación de <i>Listeria monocytogenes</i>.....	21
4.Resultados.....	21

5. Análisis estadístico.....	23
6. Discusión	28
7. Conclusiones	30
8. Bibliografía.....	30



UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA

***UTILIZACIÓN DEL ACEITE DE ORÉGANO COMO BIOCONSERVANTE EN
TRUCHA***

RESUMEN

La trucha es uno de los productos acuícolas más importantes en Colombia debido al incremento de su demanda y a su alto valor nutricional. Sin embargo, su elevada perecibilidad representa un desafío para su conservación, ya que factores como la acción de enzimas autolíticas y la proliferación de microorganismos deterioran rápidamente su calidad e inocuidad. Ante esta problemática, los conservantes naturales han surgido como una alternativa frente a los conservantes sintéticos, cuyo consumo prolongado se ha relacionado con posibles efectos adversos para la salud, como reacciones alérgicas, citotoxicidad y enfermedades crónicas.

Entre las alternativas naturales, el aceite esencial de orégano (AEO) destaca por sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes, atribuidas principalmente a compuestos como el timol y el carvacrol. El objetivo de este estudio fue determinar la concentración mínima inhibitoria del AEO capaz de prolongar la conservación de filetes de trucha arcoíris almacenados en refrigeración.

Los resultados evidenciaron que el AEO retrasó el crecimiento de microorganismos durante el almacenamiento, contribuyendo a extender la vida útil del producto. Aunque su acción fue principalmente bacteriostática, demostró eficacia en el control del deterioro microbiológico, lo que respalda su potencial uso como sustituto parcial de conservantes sintéticos en la industria alimentaria. Además, su incorporación podría generar ventajas sensoriales al tratarse de un ingrediente compatible con preparaciones culinarias a base de pescado. Estos hallazgos resaltan el potencial del AEO como alternativa natural para mejorar la calidad e inocuidad de productos pesqueros refrigerados.

Palabras clave: Trucha arcoíris, aceite esencial de orégano, bioconservantes naturales, propiedades antimicrobianas, concentración mínima inhibitoria (CMI).

Estudiante Angie Stephania Ruiz Acosta Docente Institución: Patricia Cifuentes Prieto

Fecha: 08 de mayo de 2026

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de orégano comercial sobre microorganismos indicadores de calidad (aerobios mesófilos, número más probable (NMP) de Coliformes totales y fecales, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus*) en Trucha arco iris almacenada por 0, 1, 3 y 7 días de refrigeración.

Objetivos específicos

- Determinar la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de orégano comercial a utilizar en Trucha Arco iris.
- Evaluar la calidad microbiológica de las truchas tratadas con aceite esencial de orégano comercial en los diferentes intervalos de tiempo de almacenamiento (día 0, 1, 3, y 7).

INTRODUCCIÓN

El aceite de orégano es conocido por tener propiedades antimicrobianas debido a sus componentes naturales, carvacrol y timol. Estos compuestos son fenoles naturales que han demostrado tener actividad antibacteriana y antifúngica.(1)

El carvacrol es conocido por sus propiedades antimicrobianas siendo eficaz contra una amplia gama de bacterias, incluyendo algunas cepas resistentes a antibióticos. También tiene actividad antifúngica y antiparasitaria. El timol es otro fenol presente en el aceite de orégano que también muestra actividad antimicrobiana. Al igual que el carvacrol, puede inhibir el crecimiento de bacterias y hongos. Estos componentes actúan dañando las membranas celulares de los microorganismos, lo que lleva a la muerte celular. Sin embargo, es importante destacar que la eficacia de los aceites esenciales como el aceite de orégano puede variar según la concentración de estos compuestos en el producto y la sensibilidad de los microorganismos específicos.(2)

La trucha es un pescado de agua dulce altamente nutritivo, valorado tanto por su sabor como por sus propiedades saludables. Su composición nutricional destaca principalmente por su alto contenido de proteínas de alta calidad, que oscilan entre 20 y 22% del producto, lo que la convierte en una excelente fuente proteica. Además, la trucha es rica en grasas saludables, especialmente ácidos grasos omega-3, como el Ácido Eicosapentaenoico (EPA) y el Ácido Docosahexaenoico (DHA), con un contenido de grasa total de aproximadamente 5 a 7%, lo que contribuye a la mejora de la salud cardiovascular y cerebral. Ofrece además un aporte calórico que varía entre 120 y 150 calorías por cada 100 gramos. En cuanto a vitaminas, se destaca por su alta concentración de vitamina B12, esencial para el sistema nervioso y la producción de glóbulos rojos, así como vitamina D, que es crucial para la salud ósea y la absorción de calcio. También es rica en niacina (vitamina B3), que apoya la salud de la piel, el sistema nervioso y el metabolismo. En cuanto a minerales, la trucha aporta fósforo, fundamental para la salud ósea, selenio, que actúa como antioxidante, y potasio, que ayuda a regular la presión arterial. Además, tiene niveles bajos de mercurio en comparación con otros pescados, lo que la convierte en una opción segura para el consumo regular. Su contenido en ácidos grasos omega-3 no solo mejora la salud cardiovascular, sino que también tiene propiedades antiinflamatorias, contribuyendo a la protección celular. Este pescado es fácil de digerir, tiene propiedades antioxidantes y alto contenido de nutrientes esenciales, lo que lo hace un alimento clave en la prevención de trastornos digestivos, cardiovasculares, neurológicos y articulares, así como en la mejora de la salud ósea y el desarrollo cerebral, lo que lo convierte en una opción alimentaria excelente dentro de una dieta balanceada.(5,17)

El presente proyecto planteó la utilización de aceite esencial de orégano para aplicar en productos pesqueros específicamente en la trucha y así combatir la proliferación de microorganismos dañinos, conservando su calidad y frescura por más tiempo.

1. Antecedentes

La trucha se ha consolidado como uno de los productos acuícolas más relevantes en Colombia, gracias a su elevado contenido proteico, la presencia de ácidos grasos omega-3 y sus reconocidos beneficios para la salud humana. Sin embargo, su rápida perecibilidad constituye una limitación importante para su comercialización y consumo, ya que la frescura se ve afectada por procesos enzimáticos autolíticos, proliferación de microorganismos patógenos y producción de toxinas bacterianas. De acuerdo con la FDA, Giuffrida et al. (2009), el tiempo de vida útil del pescado graso almacenado en refrigeración puede oscilar entre uno y dos días, lo que evidencia la necesidad de aplicar estrategias de conservación efectivas que permitan mantener su calidad microbiológica y sensorial durante el almacenamiento en esas condiciones de temperatura. (7)

Tradicionalmente, la industria alimentaria ha recurrido a conservantes químicos sintéticos, tales como Hidroxitolueno Butilado (BHT), benzoato de sodio, sorbato de potasio, acetato de sodio y sulfito de sodio, los cuales ofrecen eficacia en bajas concentraciones y no alteran las características organolépticas del alimento. No obstante, múltiples estudios han demostrado que estos compuestos pueden generar efectos adversos para la salud, como reacciones alérgicas, alteraciones neurológicas, enfermedades autoinmunes e incluso procesos cancerígenos.(7)

En este contexto, surge la necesidad de explorar alternativas naturales, seguras y sostenibles, como los aceites esenciales de origen vegetal, que poseen propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Entre ellos, el aceite de orégano ha demostrado resultados favorables en la conservación de diferentes alimentos, debido a compuestos bioactivos como el timol y el carvacrol, los cuales actúan sobre las membranas celulares de los microorganismos, prolongando la vida útil de los productos sin comprometer la calidad sensorial.

En el año 2006, Seydim y Sarikus evaluaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano incorporado en recubrimientos comestibles a base de proteína de soya aplicados sobre carne fresca de res almacenada en refrigeración. En la investigación se añadieron concentraciones de 1 %, 2 % y 3 % de aceite esencial de orégano al recubrimiento y posteriormente se analizaron sus efectos sobre bacterias patógenas como *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. Los resultados mostraron que la incorporación del aceite esencial en el recubrimiento produjo reducciones significativas en las poblaciones bacterianas durante 14 días de almacenamiento, alcanzando disminuciones de hasta 2.5 log UFC/g en comparación con las muestras control. Además, el tratamiento contribuyó a mantener la estabilidad del color y las características sensoriales de la carne, lo que evidencia el potencial del aceite esencial de orégano como agente antimicrobiano natural en sistemas de conservación de carne fresca. (28)

Posteriormente, en el año 2008, Viuda, M. y colaboradores evaluaron la aplicación directa de aceite esencial de orégano en pechuga de pollo molida, utilizando concentraciones de 100, 300 y 400 ppm (partes por millón), comparadas con un control sin aditivo y con BHA como antioxidante sintético. El aceite, rico en carvacrol, se mezcló homogéneamente con la carne y las muestras se almacenaron a 4 °C durante 7 días, tanto en estado crudo como cocido. Los resultados mostraron que las dosis de 300–400 ppm

redujeron significativamente la oxidación de lípidos y proteínas (medida por TBARS), mejoraron la estabilidad del color y disminuyeron la formación de compuestos volátiles asociados al olor rancio (como hexanal), especialmente en la carne cocida. En varios parámetros, el tratamiento con 400 ppm fue igual o más efectivo que el BHA, concluyendo que el aceite esencial de orégano puede emplearse como antioxidante natural para prolongar la vida útil y preservar la calidad del pollo molido durante el almacenamiento en refrigeración. (20)

Finalmente, en el año 2016, Tyson y Harrison evaluaron la aplicación del aceite esencial de orégano como agente antimicrobiano en carne seca con el fin de mejorar la seguridad microbiológica del producto. En esta investigación, el aceite esencial fue incorporado a la matriz cárnica antes del proceso de deshidratación, evaluándose su efecto sobre bacterias patógenas asociadas a enfermedades transmitidas por alimentos, particularmente *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*. Los resultados demostraron que la presencia del aceite esencial de orégano redujo significativamente la supervivencia de estos microorganismos durante el proceso de secado y almacenamiento del producto. Este efecto se atribuye principalmente a la acción de compuestos fenólicos presentes en el aceite, como carvacrol y timol, los cuales poseen la capacidad de alterar la permeabilidad de la membrana citoplasmática bacteriana, provocando la pérdida de componentes intracelulares esenciales y la interrupción de procesos metabólicos fundamentales. Además, el estudio evidenció que la aplicación del aceite esencial contribuye a mejorar la estabilidad microbiológica del producto sin afectar significativamente sus características sensoriales cuando se utilizan concentraciones adecuadas. En consecuencia, los autores concluyen que el aceite esencial de orégano representa una alternativa natural prometedora para el control de patógenos en productos cárnicos deshidratados y para la extensión de la vida útil, en concordancia con la creciente demanda de conservantes de origen natural en la industria alimentaria.(27)

2. Marco referencial

2.1 Marco teórico

La trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) es un pez de agua dulce ampliamente cultivado a nivel mundial debido a su rápido crecimiento, buena conversión alimenticia y elevado valor nutricional. Desde el punto de vista proximal, su músculo contiene aproximadamente entre 19 y 23 % de proteínas de alto valor biológico, caracterizadas por un perfil completo de aminoácidos esenciales, lo que la convierte en una fuente proteica de alta calidad para la alimentación humana. Asimismo, presenta un contenido lipídico variable (2–8 %), dependiendo del sistema de cultivo y la dieta, destacándose por su riqueza en ácidos grasos poliinsaturados omega-3 de cadena larga, principalmente ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), compuestos asociados con efectos cardioprotectores, antiinflamatorios y neuroprotectores.(17,18)

Desde el punto de vista micronutricional, la carne de trucha aporta cantidades relevantes de vitaminas del complejo B, especialmente vitamina B12 y niacina, además de vitamina D. También constituye una fuente importante de minerales como fósforo, potasio,

magnesio y selenio, los cuales participan en funciones metabólicas, antioxidantes y estructurales del organismo. Debido a esta combinación de macronutrientes y micronutrientes, la trucha es considerada un alimento funcional dentro de dietas equilibradas, tal como lo señala la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).(18)

No obstante, la elevada proporción de lípidos insaturados y su alto contenido de agua hacen que la trucha sea un alimento altamente perecedero. Tras el sacrificio, comienzan procesos autolíticos y microbiológicos que afectan rápidamente la calidad sensorial, acompañados de oxidación lipídica y proteica, responsables del desarrollo de olores rancios, pérdida de color y deterioro de la textura. Diversos estudios han reportado que, bajo almacenamiento en refrigeración convencional ($\approx 4^{\circ}\text{C}$), la vida útil microbiológica de la trucha fresca suele limitarse a aproximadamente 1-2 días según la USDA (Departamento de agricultura de Estados Unidos), dependiendo de las condiciones higiénicas iniciales y del tipo de envasado. (7)

Durante el almacenamiento, se observa un incremento progresivo de bacterias psicrótrofas, así como de indicadores químicos de deterioro, como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y compuestos volátiles derivados de la oxidación de ácidos grasos, particularmente aldehídos como el hexanal. Estos cambios afectan directamente la aceptabilidad del producto por parte del consumidor. Debido a esta rápida pérdida de calidad, se han investigado diferentes estrategias de conservación, incluyendo refrigeración en hielo, envasado en atmósfera modificada y la aplicación de antioxidantes y antimicrobianos naturales, con el objetivo de retardar el deterioro oxidativo y microbiológico.(6,7,18)

En este contexto, el uso de bioconservantes de origen natural ha cobrado especial interés como alternativa a los aditivos sintéticos, ya que permiten extender la vida útil del pescado manteniendo su valor nutricional y respondiendo a la creciente demanda de productos más naturales. La susceptibilidad de la trucha a la oxidación, asociada principalmente a su contenido de EPA y DHA, justifica la evaluación de compuestos antioxidantes naturales dentro de estrategias de conservación, particularmente en productos frescos o mínimamente procesados.(5,6,7).

Aceite esencial de orégano

El aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) es una mezcla compleja de compuestos volátiles presentes en las hojas y flores de la planta, extraídos comúnmente por destilación al vapor. Entre sus componentes bioactivos más abundantes destacan los fenoles carvacrol y timol, que constituyen una proporción significativa de su composición química y están ampliamente asociados con sus efectos biológicos. Estos compuestos fenólicos presentan una estructura que les confiere tanto propiedades antioxidantes como antimicrobianas, destacándose por su capacidad de interactuar con estructuras celulares de microorganismos y alterar procesos vitales. (8,19,20,25)

Desde el punto de vista funcional, el carvacrol y el timol ejercen su actividad antimicrobiana principalmente a través de la perturbación de la membrana citoplasmática de bacterias y hongos, incrementando su permeabilidad y provocando la salida de iones y componentes intracelulares esenciales. Este efecto lleva a la disrupción del balance iónico, colapso del gradiente de protones y agotamiento de ATP, lo que resulta en la inhibición del crecimiento y, en muchos casos, en la muerte celular. Además de estos

mecanismos de acción sobre la membrana, se ha observado que estos compuestos pueden interferir con la formación de biofilms bacterianos, inhibir bombas de eflujo y afectar funciones celulares clave asociadas con la virulencia y la supervivencia de los microorganismos. (8,19,22)

El espectro antimicrobiano del aceite esencial de orégano es bastante amplio, con eficacia demostrada in vitro frente a una variedad de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, así como frente a hongos y levaduras, incluyendo especies comúnmente implicadas en el deterioro de alimentos y enfermedades transmitidas por éstos. Esta actividad ha sido reportada en diferentes ensayos de difusión en agar y determinación de concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), donde tanto el aceite como sus principales componentes inhiben el crecimiento de microorganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. [10,19,20,27]

Debido a estas propiedades, el aceite esencial de orégano ha recibido atención significativa como bioconservante natural en alimentos, especialmente en productos cárnicos y piscícolas, donde puede contribuir a retardar procesos de deterioro microbiológico y oxidativo. Su aplicación puede realizarse directamente en matrices alimentarias o como parte de estrategias de conservación combinadas con otras tecnologías (por ejemplo, atmósferas modificadas o empaques activos), buscando mantener la seguridad y calidad del producto sin depender exclusivamente de aditivos sintéticos. La eficacia del aceite como agente antioxidante complementa su actividad antimicrobiana, pues ayuda a proteger lípidos insaturados, que son particularmente susceptibles a la oxidación en alimentos ricos en ácidos grasos poliinsaturados, como carnes y pescado (8,9,10)

La composición química del aceite de orégano puede variar dependiendo de la especie vegetal, el origen geográfico, las condiciones agronómicas, el método de extracción, el clima, el tipo de suelo, la altitud, la radiación solar y el estrés hídrico. Estas variables determinan la expresión metabólica de la planta, dando lugar a diferentes quimiotipos, definidos por la predominancia de ciertos compuestos químicos [13,15]. Para aplicaciones alimentarias, la destilación por arrastre de vapor es el método más utilizado, ya que permite obtener un aceite de alta pureza. Debido a su elevada concentración, el aceite esencial de orégano debe emplearse en bajas dosis, respetando las normativas de seguridad alimentaria vigentes [14,16]. (*Origanum vulgare* L.) presenta una variabilidad significativa asociada a la región geográfica de cultivo, debido a la influencia de factores ambientales como en regiones de clima mediterráneo, como Grecia, Italia y Turquía, el orégano suele presentar altos contenidos de carvacrol, con concentraciones que pueden superar el 60–70 % del aceite esencial. Este perfil se asocia a condiciones de alta radiación solar y temperaturas elevadas, que favorecen la biosíntesis de compuestos fenólicos con actividad antimicrobiana [17]. En estas regiones, el orégano es especialmente valorado para aplicaciones alimentarias como conservante natural.

Por el contrario, en zonas de Europa central y septentrional, caracterizadas por climas más templados y húmedos, se ha observado una mayor proporción de timol, p-cimeno y γ -terpineno, con una reducción relativa del carvacrol. Este tipo de perfil químico presenta un aroma más suave y una menor actividad antimicrobiana, pero resulta adecuado para aplicaciones donde se priorizan características sensoriales menos intensas [18].

En regiones de América Latina, como México, Perú y Colombia, la composición del aceite esencial de orégano puede variar ampliamente dependiendo de la altitud y las

condiciones edafoclimáticas. Estudios reportan quimiotipos ricos en carvacrol, aunque con una mayor presencia de compuestos secundarios como linalol, borneol y β -cariofileno, lo que contribuye a una mayor complejidad aromática [19].

Estas diferencias regionales permiten inferir que el origen geográfico del orégano es un factor determinante en su composición química y, por tanto, en su funcionalidad tecnológica y biológica en la industria alimentaria. El conocimiento de estos quimiotipos resulta esencial para seleccionar materias primas adecuadas según el uso previsto, ya sea como aromatizante, antioxidante o agente antimicrobiano natural [13,16].

2.2 Marco conceptual

- **Bioconservación:** uso de compuestos naturales para extender la vida útil de alimentos.
- **Concentración mínima inhibitoria (CMI):** menor concentración de un antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento visible de un microorganismo.
- **Calidad microbiológica:** grado de inocuidad de un alimento determinado por el recuento de microorganismos indicadores.
- **Coliformes totales y fecales:** bacterias indicadoras de contaminación y condiciones higiénico-sanitarias.

2.3 Marco legal

La investigación se fundamenta en las Normas Técnicas Colombianas (ICONTEC) aplicadas a la microbiología de alimentos, entre las cuales se encuentran(4)

- NTC 4519 (2009): recuento de microorganismos mesófilos aerobios
- NTC 4516 (2009): determinación de coliformes totales y fecales
- NTC 4779 (2007): recuento de *Staphylococcus aureus*
- NTC 4574 (2007): detección de *Salmonella spp*

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1 Universo, población y muestra

El universo de estudio corresponde a la producción de trucha arcoíris en Colombia, específicamente a los sistemas de cría en agua dulce. La población se conforma por truchas cultivadas en el criadero de la finca Montearroyo, ubicada en la vía Bogotá-La Vega (Cundinamarca).

3.2 Hipótesis, variables e indicadores

- **Hipótesis:** La aplicación de aceite esencial de orégano inhibe el crecimiento de microorganismos indicadores de calidad en filetes de trucha arcoíris, prolongando su vida útil en condiciones de refrigeración.
- **Variable independiente:** concentración de aceite esencial de orégano.
- **Variable dependiente:** crecimiento de microorganismos indicadores de calidad e inocuidad microbiológica, incluyendo aerobios mesófilos, coliformes totales, coliformes fecales, *Staphylococcus coagulasa positivo* y *Salmonella spp.*
- **Indicadores:**
 - Recuento de mesófilos aerobios (UFC/g).
 - Número más probable (NMP) de coliformes totales y fecales.
 - Detección de *Salmonella spp.*
 - Recuento de *Staphylococcus aureus*.
- Detección o recuento de *Listeria monocytogenes* según normativas microbiológicas aplicables

3.3 Técnicas y procedimientos

Se empleó la técnica de microdilución en caldo Mueller Hinton para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del aceite esencial de orégano frente a cepas de referencia *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritidis* y *L. monocytogenes* con posterior confirmación realizando siembra en superficie en Agar Nutritivo.

Para la fase experimental con filetes de trucha arcoíris, se prepararon muestras de 25 g en diferentes intervalos de tiempo correspondientes a los días 0, 1, 3 y 7 de almacenamiento en refrigeración. El procesamiento de las muestras se realizó siguiendo los protocolos establecidos en las Normas Técnicas Colombianas (NTC) para análisis microbiológicos de alimentos. Cada análisis se llevó a cabo por triplicado con el fin de garantizar la reproducibilidad y confiabilidad de los resultados. Posteriormente, las muestras fueron sometidas a evaluación microbiológica para determinar su calidad higiénico-sanitaria en función del tratamiento con aceite esencial de orégano.

3.4 Metodología

Determinación de la CMI del aceite esencial de orégano: La concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de orégano (AEO) se determinó mediante la técnica de microdilución en caldo Mueller-Hinton, siguiendo el método descrito por Montero et al 2018. Se emplearon cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*, provenientes del cepario de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, que fueron reactivadas e incubadas a 37 °C durante 24 horas. Posteriormente fueron ajustadas a una turbidez equivalente a 0,5 en la escala de McFarland ($\approx 1 \times 10^8$ UFC/mL) en tubos con caldo Mueller-Hinton.

Se prepararon diluciones seriadas del AEO a concentraciones de 3 %, 1 %, 0,50 %, 0,25 %, 0,12 %, 0,06 % y 0,03 % (v/v), utilizando alcohol grado alimentario (96%) al 30% como solvente. Para cada tratamiento, se mezclaron 100 μ L del inóculo bacteriano con 100 μ L de cada concentración del aceite en placas de ELISA de 96 pozos, realizándose el procedimiento por triplicado para cada cepa.

Se establecieron controles positivos individuales para cada microorganismo, consistentes en caldo Mueller-Hinton (MH) inoculado con la respectiva cepa bacteriana. De manera paralela, se prepararon controles negativos conformados por caldo MH con la cepa y el antibiótico correspondiente: ampicilina para *Escherichia coli*, oxacilina para *Staphylococcus aureus* y ciprofloxacina para *Salmonella enteritidis*, siguiendo el protocolo descrito por Argote et al., quienes reportan el uso de estos antimicrobianos para inhibir el crecimiento bacteriano. (11) Todas las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas. La CMI se definió como la concentración más baja del AEO en la que no se observó crecimiento visible.

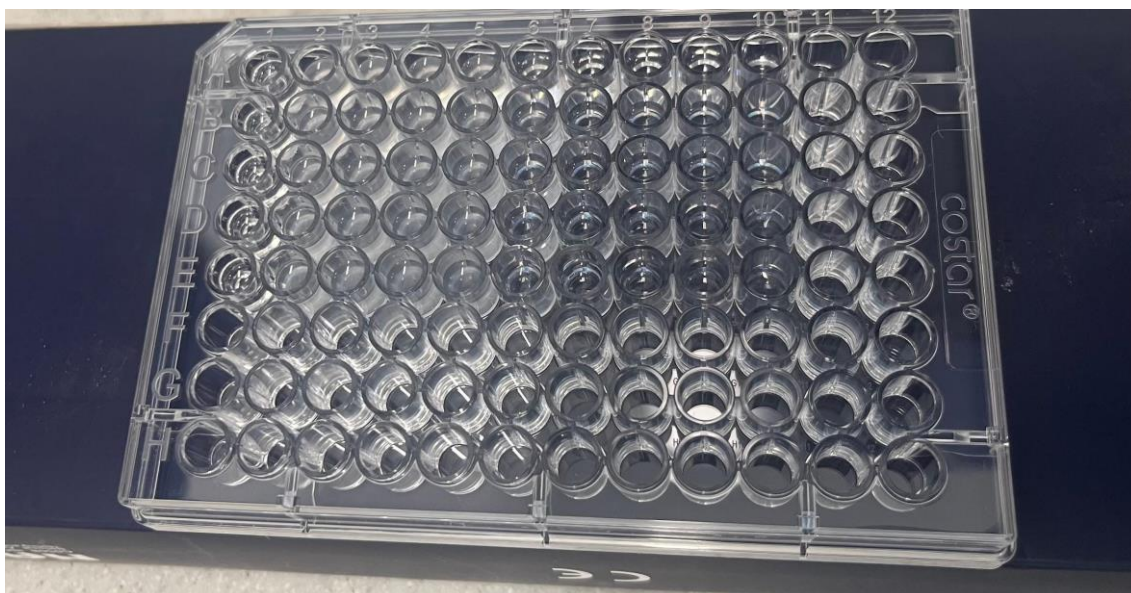


Imagen 1: En la fila A se inoculó *E.coli*, en la B *S.enteritidis*, en la C *L.monocytogenes* y en la D se encuentra *S.aureus*. En la fila 1 se inoculó aceite puro con la suspensión de la cepa, de las filas 2 a la 8 las diferentes concentraciones del aceite de orégano con la respectiva suspensión de la cepa, en la fila 9 se inoculó alcohol al 30% con la cepa y por último en la fila 10 la cepa sola como control de crecimiento.

Posteriormente, para confirmar los resultados obtenidos en el ensayo en placa, se realizó la siembra en agar Mueller-Hinton mediante estría lineal con asa bacteriológica, seguida de incubación a 37 °C durante 24 horas. La inhibición del crecimiento bacteriano se corroboró por la ausencia de colonias en el agar como se observa en la Figura 1.

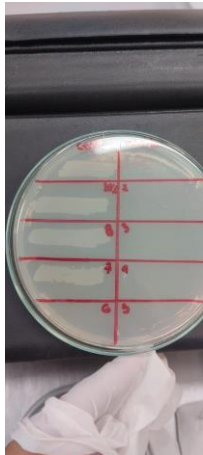
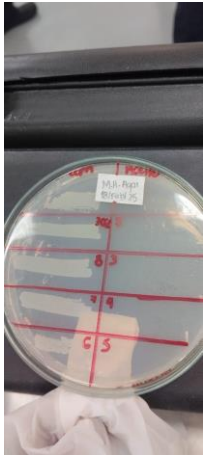
<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
			

Figura 1.
Determinación de la CMI del AEO frente a cepas ATCC. Se observó

crecimiento bacteriano en las concentraciones de 0,03% y 0,06% para todas las cepas evaluadas, lo que indica ausencia de efecto inhibitorio del AEO en estos niveles. En contraste, a partir de la concentración de 0,12% y en las concentraciones superiores (0,25%, 0,50%, 1% y 3%) no se evidenció crecimiento bacteriano. Fuente: Autoría propia

En consecuencia, la CMI del AEO se estableció en 0,12% (v/v), al corresponder a la menor concentración capaz de inhibir completamente el crecimiento de los microorganismos evaluados. Estos resultados evidencian una marcada actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano, incluso a bajas concentraciones.

Preparación de las muestras de los filetes de trucha con y sin tratamiento para el análisis microbiológico

Las seis truchas arcoíris fueron capturadas en el criadero de la finca Montearroyo, kilómetro 30 vía Bogotá - La Vega (Cundinamarca), en donde posteriormente fueron evisceradas y fileteadas en 4 partes como se muestra en la imagen 2; Se desarrollaron dos formulaciones: tres truchas sin tratamiento (T0) y tres truchas que se sometieron a aspersión en AEO al 0.12% (T1), se empacó cada trozo en un empaque al vacío por separado y se almacenaron temporalmente en una nevera portátil a una temperatura aproximada de $\pm 4^{\circ}\text{C}$ mientras se transportaron a los laboratorios de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca .



Imagen 2. Trucha arcoíris eviscerada, porcionada y empacada al vacío. Fuente: Autoría propia.

Para la preparación de las diluciones iniciales de las muestras se pesaron 25 g de cada uno de los filetes de acuerdo al día estudiado y se agregaron en 225 ml de agua peptonada tamponada al 2%. Seguidamente, se realizaron diluciones de 10^{-2} a 10^{-6} en tubos de agua peptonada.

Determinación de la calidad microbiológica de los filetes de trucha arcoíris con y sin tratamiento con AEO

Se evaluó la calidad microbiológica de los filetes de trucha correspondientes a las dos formulaciones experimentales en los diferentes intervalos de almacenamiento. Se establecieron dos tratamientos: T0, conformado por filetes de trucha sin aplicación de aceite esencial empacados al vacío y almacenados en refrigeración a 4 °C, utilizado como control; y T1, integrado por filetes tratados mediante aspersión con aceite esencial de orégano al 0.12 %, empacados al vacío y almacenados en refrigeración a 4 °C, con el fin de evaluar el efecto bioconservante del AEO sobre la calidad microbiológica del producto.

La evaluación microbiológica de las muestras se realizó en los días 0, 1, 3 y 7 de almacenamiento en refrigeración, modificando el enfoque experimental basado en lo reportado por Konuk y Korel (3) ya que el último análisis no se realizó a los 5 días si no a los 7 días debido a inconvenientes logísticos. Para ello, se aplicaron los métodos establecidos en las Normas Técnicas Colombianas (NTC), incluyendo el recuento de microorganismos mesófilos aerobios (NTC 4519:2009), el Número Más Probable (NMP) de coliformes totales y fecales (NTC 4516:2009), el recuento de *Staphylococcus*

coagulasa positiva (NTC 4779:2007), la detección de *Salmonella spp.* (NTC 4574:2007) y la detección de *Listeria monocytogenes* (NTC 4666:2008) (4).

Recuento de los microorganismos aerobios mesófilos.

Utilizando el método de siembra en profundidad, se llevó 1 mL por duplicado de cada dilución descrita en el apartado de preparación de muestras en cajas de petri estériles, con posterior adición de 15 mL de Agar Plate Count y se incubó en aerobiosis a 30°C por 72 horas.

NMP de coliformes totales

Para la determinación de coliformes totales, se inocularon alícuotas de las diluciones correspondientes en tubos con caldo lactosado bilis verde brillante (LBVB) con campana de Durham, los cuales fueron incubados a 37 °C durante 24 a 48 horas. La presencia de gas en estos tubos sugiere la existencia de coliformes totales, lo cual se debe confirmar con siembras en agar EMB con colonias características de fermentadores de lactosa. Los resultados se expresaron como Número Más Probable por gramos de muestra (NMP/g), de acuerdo con las tablas estándar establecidas para esta técnica.

NMP de coliformes fecales

De los tubos confirmados para coliformes totales, se transfirieron asadas a tubos, uno con caldo LBVB con campana de Durham y otro con caldo triptófano y se llevaron a incubación durante 24 a 48 horas a 45°C. A los tubos con caldo LBVB que presentaron producción de gas se les confirmó presencia de *E. coli* adicionando 0.2 ml de reactivo de Kovacs al tubo con caldo triptófano para revelar la presencia de indol, se consideró bacterias coliformes fecales los que mostraron positividad en los dos tubos: CO₂ positivo e indol positivo.

Determinación de *Salmonella spp.*

A partir de la dilución 10⁻¹ previamente preenriquecida en agua peptonada e incubada a 35 °C durante 18 h, se transfirió 1 mL a dos tubos que contenían 10 mL de caldo tetrationato y caldo selenito cistina, respectivamente. Los tubos se incubaron durante 24 h a 43 °C. Posteriormente, se realizó la siembra por estría en superficie sobre agar XLD y agar bismuto sulfito a partir de cada caldo de enriquecimiento, incubándose a 35 ± 2 °C durante 24 h.

Las colonias con morfología presuntiva de *Salmonella spp.*, caracterizadas por la presencia de centro negro debido a la producción de H₂S, fueron seleccionadas y sometidas a una batería de pruebas bioquímicas para enterobacterias con el fin de confirmar su identidad.

Determinación de *Listeria monocytogenes*

Se hizo la dilución inicial en caldo BLEB (Caldo de enriquecimiento para *Listeria*) y se mandó incubar a 30°C por 18 horas, posteriormente se pasó a Caldo Fraser y a medios selectivos como Agar Oxford y Agar Palcam. Las colonias sospechosas fueron posteriormente analizadas por pruebas bioquímicas (xilosa, manitol, Rojo de metilo, motilidad a 22°C)

4. RESULTADOS

Los resultados obtenidos en la presente investigación evidencian el efecto del aceite esencial de orégano sobre la calidad microbiológica de los filetes de trucha arcoíris almacenados en refrigeración. A través de los análisis microbiológicos realizados durante el periodo de almacenamiento, fue posible evaluar el comportamiento de microorganismos indicadores y patógenos de importancia sanitaria, permitiendo determinar la eficacia del tratamiento aplicado en la conservación del producto. Los datos obtenidos se presentan a continuación mediante tablas y análisis comparativos, con el fin de interpretar el efecto del aceite esencial sobre la estabilidad microbiológica y la vida útil de la trucha arcoíris.

Tal como se observa en la tabla 1, no se detectó presencia de *Salmonella spp.*, *Staphylococcus coagulasa positivo*, ni *Listeria monocytogenes* en las muestras analizadas durante el período de almacenamiento, tanto en el tratamiento control (T0) como en las muestras tratadas con aceite esencial de orégano (T1). Estos resultados evidencian condiciones microbiológicas favorables y cumplimiento de criterios de inocuidad alimentaria durante el estudio.

Microorganismo	Día 0	Día 1	Día 3	Día 7
<i>Salmonella spp.</i> (T0 y T1)	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Staphylococcus coagulasa positivo</i> (T0 y T1)	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
<i>Listeria monocytogenes</i> (T0 y T1)	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Tabla 1. Resultados de microorganismos patógenos en filetes de trucha arcoíris durante el almacenamiento en refrigeración

Día	T0 (-2)	T0 (-3)	T0 (-4)	T1 (-2)	T1 (-3)	T1 (-4)
0	74	9	1	180	20	1
1	210	20	4	250	30	6
3	>300	90	16	160	10	0
7	>300	>300	200	>300	36	3

Tabla 2. Resultados de recuento de aerobios mesófilos (UFC/g) de los filetes de pescado analizados.

Día	T0 (sin tratamiento)	T1 (con tratamiento)
0	3	3
1	9,1	3
3	150	11
7	240	23

Tabla 3. Número más probable de coliformes totales (NMP/g)

Durante los días 0 y 1 de almacenamiento, el crecimiento de los microorganismos indicadores de calidad fue similar en ambas formulaciones, sin observarse diferencias representativas en los recuentos de microorganismos mesófilos aerobios (UFC/g) ni en el número más probable (NMP/g) de coliformes totales, evidenciándose valores comparables entre las muestras analizadas. Cabe aclarar que para NMP de coliformes fecales dieron en todas las muestras <3.

Microorganismo analizado	Tipo de análisis	Resultados principales (T0 y T1 en días 0, 1, 3, 7)	Interpretación / Conclusión
Aerobios mesófilos	Recuento en UFC/g (NTC 4519:2009)	Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre T0 y T1 a partir del día 3, evidenciando un efecto inhibitorio moderado del AEO sobre el crecimiento microbiano.	El AEO (T1) retardó el crecimiento microbiano, evidenciando efecto inhibitorio parcial
Coliformes totales y fecales	Número Más Probable (NMP/g) (NTC 4516:2009)	T0 presentó valores < 3 NMP/g hasta el día 3 y aumento leve al día 7. T1 mantuvo < 3 NMP/g durante todo el periodo.	El tratamiento con AEO (T1) permitió mantener niveles estables de coliformes totales y fecales durante el almacenamiento, sin presentar diferencias estadísticamente significativas en comparación con el control ($p > 0,05$), lo que sugiere un efecto de control microbiológico y conservación de la calidad higiénico-sanitaria del producto.

<i>Staphylococcus coagulasa positivo</i>	Recuento en UFC/g (NTC 4779:2007)	Se mantuvo en valores inferiores a 100 UFC/g durante todo el periodo de almacenamiento, tanto en muestras tratadas como no tratadas, sin evidenciar crecimiento significativo.	El AEO mantuvo control total sobre <i>Staphylococcus coagulasa positivo</i> sin diferencias relevantes entre tratamientos.
<i>Salmonella spp.</i>	Presencia/Ausencia (NTC 4574:2007)	Ausente en todas las muestras T0 y T1 en todos los días evaluados.	No hubo contaminación por <i>Salmonella spp.</i> , indicando adecuada inocuidad y manipulación.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Detección / Recuento	Ausente en las muestras tratadas (T1) y (T0) durante todos los días evaluados.	No hubo contaminación por <i>Listeria monocytogenes</i> , indicando adecuada inocuidad y manipulación.

Tabla 3. Resultados microbiológicos de los filetes de trucha arcoíris No tratados (T0) y tratados (T1) con aceite esencial de orégano (AEO 0.12%) durante almacenamiento en refrigeración.

En ninguna de las muestras se evidenció la presencia de *Salmonella spp.*, pero en algunas de las muestras que no tenían tratamiento con el AEO se aislaron microorganismos en los medios selectivos como *Proteus spp*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp* y *Enterobacter spp.*.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Día	T1 log10	T0 log10
0	1.83	1.46
1	1.98	1.89
3	1.76	2.13
7	2.06	2.43

Tabla 4. Análisis estadístico de los recuentos de aerobios mesófilos (log10 UFC/g) en filetes de trucha arcoíris tratados (T1) y no tratados (T0) con aceite esencial de orégano durante el almacenamiento refrigerado.

El análisis de los recuentos microbiológicos mostró que las muestras tratadas con aceite esencial de orégano (T1) presentaron valores promedio inferiores en comparación con el tratamiento control (T0) a partir del día 3 de almacenamiento.

Al realizar la transformación logarítmica (log10), se evidenció una tendencia a un menor crecimiento microbiano en las muestras tratadas, observándose diferencias más marcadas en los días 3 y 7.

Sin embargo, de acuerdo con el análisis estadístico mediante ANOVA de dos factores, estas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$).

No obstante, los resultados sugieren un posible efecto inhibitorio parcial del aceite esencial de orégano, el cual podría tener relevancia biológica en la conservación del producto.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores con replicación, considerando como variables el tiempo de almacenamiento (0, 1, 3 y 7 días) y el tratamiento (con y sin aceite esencial de orégano).

Previamente, los datos fueron ajustados para su análisis, reemplazando los valores superiores al límite de cuantificación (>300 UFC/g) por 300 y los valores iguales a cero por 1, con el fin de permitir la transformación logarítmica (log10).

Los resultados del ANOVA evidenciaron que el factor tiempo presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), indicando que el crecimiento microbiano varía a lo largo del almacenamiento.

Por otro lado, el factor tratamiento no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en los recuentos de aerobios mesófilos, lo que sugiere que, aunque se observa una tendencia a menor crecimiento en las muestras tratadas, esta no es suficientemente fuerte desde el punto de vista estadístico.

La interacción entre el tiempo y el tratamiento tampoco fue estadísticamente significativa ($p > 0.05$), lo que indica que el efecto del aceite esencial de orégano no varía significativamente a lo largo del tiempo de almacenamiento.

Sin embargo, al analizar las medias, se observa que el tratamiento con aceite esencial de orégano presenta menores valores de crecimiento microbiano a partir del día 4, lo que sugiere un efecto inhibitorio parcial que, aunque no significativo estadísticamente, podría tener relevancia biológica.

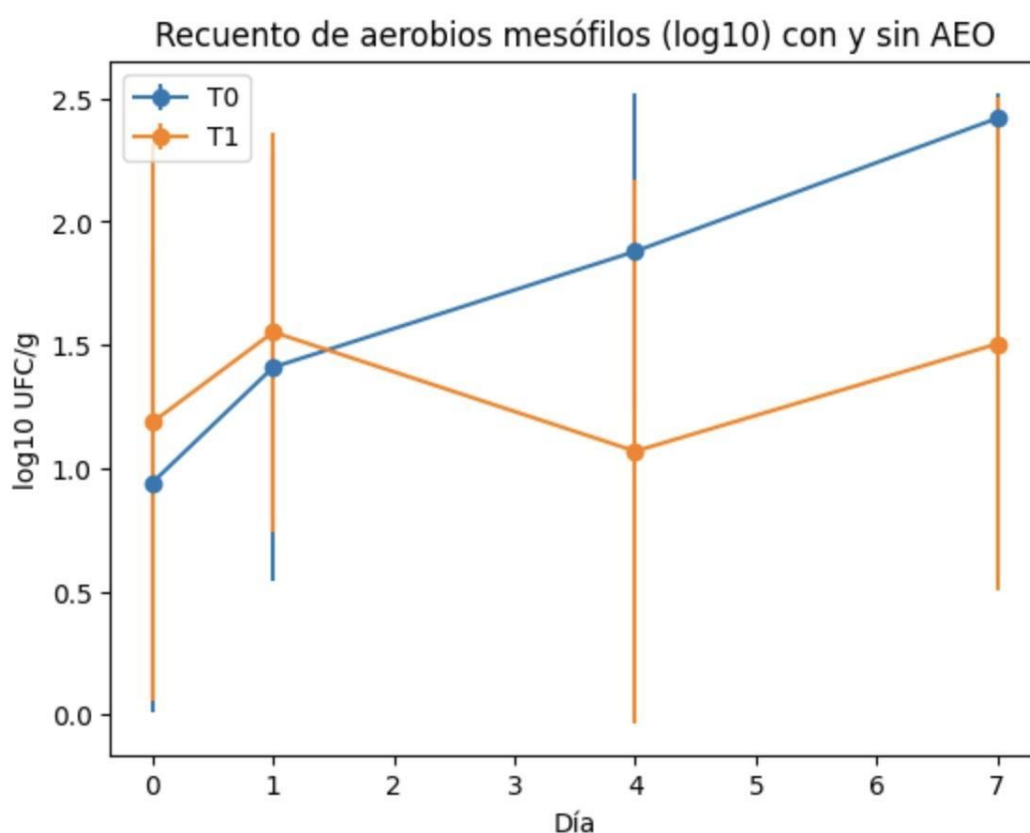


Figura 5. Muestra la evolución del crecimiento de microorganismos mesófilos aerobios expresados en log10 UFC/g. Se observa un incremento progresivo en ambos tratamientos, siendo más pronunciado en el grupo sin tratamiento (T0), especialmente en los días 3 y 7. Las barras de error representan la desviación estándar de las réplicas.

Día	Tratamiento	Media (log10 UFC/g)	Desviación estándar (DE)
-----	-------------	---------------------	--------------------------

0	T0 (sin tratamiento)	1.31	0.96
0	T1 (con AEO)	1.75	1.14
1	T0 (sin tratamiento)	1.74	0.86
1	T1 (con AEO)	2.03	0.90
3	T0 (sin tratamiento)	2.07	0.77
3	T1 (con AEO)	1.73	0.90
7	T0 (sin tratamiento)	2.40	0.18
7	T1 (con AEO)	1.86	0.92

Tabla 5. Recuento de microorganismos mesófilos aerobios (media $\pm$ DE en log₁₀ UFC/g). Valores promedio (media) y la desviación estándar (DE) de los recuentos de microorganismos mesófilos aerobios, expresados en log₁₀ UFC/g, para cada tratamiento y tiempo de almacenamiento.

Se observa un incremento progresivo de la carga microbiana en ambos tratamientos a lo largo del tiempo. No obstante, a partir del día 3, las muestras tratadas con aceite esencial de orégano (T1) presentan valores promedio menores en comparación con el control (T0), lo que sugiere un posible efecto inhibitorio.

La desviación estándar indica la variabilidad entre las réplicas, evidenciando diferencias en algunos puntos experimentales.

Factor	Valor F	p-valor	Significancia
--------	---------	---------	---------------

Tiempo	3.85	0.04	Significativo
Tratamiento	0.50	0.49	No significativo
Interacción (Tiempo × Tratamiento)	2.20	0.12	No significativo

Tabla 6. Resultados del análisis de varianza (ANOVA de dos factores)

En la Tabla 6 se presentan los resultados del análisis de varianza (ANOVA) de dos factores aplicado a los recuentos de microorganismos mesófilos aerobios.

Se evidenció que el factor tiempo presentó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), lo que indica que el crecimiento microbiano varía a lo largo del almacenamiento.

En contraste, el factor tratamiento no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$), lo que sugiere que el uso del aceite esencial de orégano no produjo un efecto estadísticamente significativo sobre el crecimiento microbiano.

De igual forma, la interacción entre el tiempo y el tratamiento no fue significativa ($p > 0.05$), indicando que el efecto del tratamiento no varía significativamente con el tiempo.

Una limitación del estudio corresponde al tamaño de muestra reducido ($n=3$ por tratamiento), lo cual puede afectar el poder estadístico del análisis y explicar la ausencia de diferencias significativas en el efecto del tratamiento.

5. DISCUSIÓN

El presente estudio permitió evaluar la eficacia del aceite esencial de orégano (AEO) como agente bioconservante en filetes de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*), considerando su acción antimicrobiana frente a microorganismos indicadores de calidad e inocuidad alimentaria.

Los resultados obtenidos en la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) evidenciaron que el AEO presentó un efecto inhibitorio a partir de una concentración de 0,12% (v/v) frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*. Estos hallazgos coinciden con investigaciones previas que atribuyen la actividad antimicrobiana del AEO a compuestos fenólicos como el carvacrol y el timol, los cuales alteran la permeabilidad de la membrana celular bacteriana, generando la pérdida de componentes intracelulares esenciales y conduciendo a la inhibición del crecimiento microbiano [10,19,20].

En cuanto a la evaluación microbiológica de los filetes tratados (T1) y no tratados (T0) durante el almacenamiento en refrigeración, se observó que la aplicación de AEO al 0,12% permitió retrasar el crecimiento de microorganismos mesófilos aerobios y mantener niveles estables de coliformes totales y fecales, sin evidencia de *Salmonella* spp., así como ausencia de *Staphylococcus coagulasa positivo*. Estos resultados sugieren un efecto inhibitorio del AEO, especialmente durante los primeros días de almacenamiento (0–3 días), el cual, aunque no fue estadísticamente significativo, evidencia un potencial efecto conservante en el producto.

Es importante considerar que el periodo de evaluación se extendió hasta el día 7 debido a una interrupción del suministro eléctrico en las instalaciones, situación por la cual no hubo ingreso ni acceso a las muestras sino hasta el día 7. Esta situación pudo influir en el incremento de los recuentos de aerobios mesófilos observado en el tratamiento T1 al día 7, resaltando la importancia del control estricto de la cadena de frío en productos pesqueros. No obstante, a pesar de esta variación, las muestras tratadas con AEO mantuvieron niveles microbiológicos aceptables, lo que sugiere un efecto protector del aceite esencial, particularmente en las etapas iniciales del almacenamiento.

En este contexto, los resultados obtenidos respaldan el potencial del AEO como alternativa natural a los conservantes sintéticos, los cuales, aunque eficaces, han sido asociados con posibles efectos adversos para la salud humana. Sin embargo, es importante destacar que la eficacia del AEO puede verse influenciada por factores como su concentración, composición química, tipo de matriz alimentaria y condiciones de almacenamiento, lo cual coincide con lo reportado por Burt (2004), quien describe la variabilidad en la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales según su composición [19], así como por Hyldgaard et al. (2012), quienes señalan que las interacciones con la matriz alimentaria pueden modular su eficacia [22]. De igual manera, Leyva-López et al. (2017) destacan que la actividad biológica del AEO depende de su perfil químico y de las condiciones de aplicación, lo que influye directamente en su efectividad como agente conservante [25].

Diversos estudios han documentado resultados consistentes sobre la eficacia del AEO en distintas matrices alimentarias, destacando su potencial como agente antimicrobiano y antioxidante. En una de las revisiones más tempranas, Burt (2004) describe que los aceites esenciales presentan actividad frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, siendo particularmente efectivos contra microorganismos asociados al deterioro de alimentos [19].

En matrices cárnicas y productos de origen animal, Seydim y Sarikus (2006) reportaron reducciones de hasta 2,5 log UFC/g en bacterias como *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* en carne de res tratada con recubrimientos que contenían AEO [28]. Posteriormente, Viuda-Martos et al. (2008) evidenciaron que concentraciones entre 300 y 400 ppm de AEO en carne de pollo reducen significativamente la carga microbiana y mejoran la estabilidad oxidativa del producto [20]. Más adelante, Hyldgaard et al. (2012) señalaron que la eficacia de los aceites esenciales puede verse modulada por interacciones con la matriz alimentaria, lo cual resulta clave para entender su comportamiento en sistemas cárnicos [22].

En productos cárnicos procesados, Tyson y Harrison (2016) reportaron una disminución significativa de patógenos como *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis* en productos deshidratados [27]. De manera complementaria, Leyva-López et al. (2017) destacaron el

papel antioxidante del AEO, contribuyendo a la estabilidad del alimento y a la prolongación de su vida útil [25]. En esta misma línea de aplicaciones en carne y derivados, Alejandro (2020) demostró que, en chorizo santandereano, el AEO en combinación con aceite esencial de romero mejora la estabilidad microbiológica y oxidativa, reforzando su potencial como conservante natural [36].

Más recientemente, Reynoso-Escobedo et al. (2024) evidenciaron que el AEO prolonga la vida de anaquel de la carne de bovino mediante un efecto principalmente bacteriostático, retardando el crecimiento microbiano sin eliminar completamente la microbiota, comportamiento que coincide con lo observado en el presente estudio [35]. De igual forma, la revisión de Silgado Olivero y González Aguilar (2024) resalta la eficacia del AEO frente a *Listeria monocytogenes* y su importancia en la seguridad alimentaria de productos cárnicos y lácteos [37].

Finalmente, en matrices vegetales y frutales también se ha reportado un efecto significativo del AEO en la reducción de la carga microbiana y en la conservación de la calidad. En hortalizas como el brócoli, su incorporación en recubrimientos comestibles ha permitido disminuir microorganismos como *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*, además de mantener la frescura del producto [29]. De forma similar, en lechuga orgánica se ha evidenciado su eficacia frente a *Salmonella*, aunque condicionada por factores como el tiempo de exposición y las condiciones de almacenamiento [30]. Asimismo, en vegetales como el kai lan, el uso de vapores de AEO ha permitido preservar características fisicoquímicas como el contenido de clorofila y el color [31]. En frutas, estudios en tomates han demostrado que nanoemulsiones de AEO reducen bacterias y hongos, extendiendo la vida útil hasta por 14 días [32], mientras que en mandarinas y nísperos, su incorporación en recubrimientos comestibles ha permitido disminuir el crecimiento de mohos y mejorar la calidad postcosecha [33,34]

En conjunto, la evidencia obtenida en este estudio, junto con los antecedentes reportados en la literatura, confirma que el aceite esencial de orégano es una alternativa viable como bioconservante en productos de origen animal, incluyendo los pesqueros. Su capacidad para retardar el crecimiento microbiano, contribuir a la estabilidad del alimento y potencialmente mejorar sus características sensoriales lo posiciona como una herramienta prometedora dentro de las estrategias actuales orientadas al reemplazo de conservantes sintéticos, favoreciendo así la inocuidad alimentaria y la aceptación del consumidor.

6. CONCLUSIONES

- La concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de orégano fue de 0.12 % (v/v), evidenciando actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* y *Listeria monocytogenes*.
- La aplicación del aceite esencial de orégano (AEO) al 0,12% permitió mantener la calidad microbiológica de los filetes de trucha arcoíris durante el almacenamiento en refrigeración, evidenciando un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de microorganismos mesófilos aerobios y contribuyendo a mantener bajos niveles de coliformes. Asimismo, no se detectó presencia de *Salmonella* spp., se registraron recuentos de *Staphylococcus coagulasa positivo* inferiores a 100 UFC/g y se evidenció ausencia de *Listeria monocytogenes*, lo que indica

que el tratamiento contribuye a garantizar la inocuidad del producto bajo las condiciones evaluadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Vega G. Conservantes naturales y seguros: su uso en la industria alimentaria [Internet]. THE FOOD TECH - Medio de noticias líder en la Industria de Alimentos y Bebidas. THE FOOD TECH; 2021 [citado el 26 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://thefoodtech.com/ingredientes-y-aditivos-alimentarios/conservantes-naturales-y-seguros-su-uso-en-la-industria-alimentaria/>
2. Redalyc.org. [citado el 26 de febrero de 2024]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/461/46116742014.pdf>
3. Konuk D, Korel F. Active packaging films as a carrier of black cumin essential oil: Development and effect on quality and shelf-life of chicken breast meat. Food Packaging and Shelf Life [Internet]. 2019; 19: 210-217. Available in: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214289417304246>
4. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. NTC 4519. Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30 °C. Colombia: ICONTEC; 2009.
5. FAO. Rainbow trout nutritional requirements. Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2023. Disponible en: <https://www.fao.org/fishery/affris/species-profiles/rainbow-trout/nutritional-requirements/en/>
6. Enríquez MA, et al. Atmósfera modificada en la conservación de carne de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Novasinergia; 2016.
7. Giuffrida A, Valenti D, Giarratana F, Ziino G, Panebianco A. Quality assessment of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during chilled storage. Food Control. 2009;20(10):912-916. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19241583/>
8. Sikkema J, et al. Essential Oils in Food Preservation: Mode of Action, Synergies, and Interactions with Food Matrix Components. Front Microbiol. 2012;3:12. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2012.00012/full>
9. Dorman HJD, Deans SG. Essential Oils as Potential Natural Antioxidants, Antimicrobial, and Antifungal Agents in Active Food Packaging. MDPI Antibiotics. 2023;13(12):1168. <https://www.mdpi.com/2079-6382/13/12/1168>
10. de Kraker MEA, et al. Antimicrobial activity of oregano oil, thyme oil, thymol and carvacrol against microbial isolates. J Vet Med. 2019; [cited 2026]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31566822/>
11. Argote F, Suárez Z, Tobar M, Pérez J, Hurtado A, Delgado J. Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Rev Biotecnol Agro. 2017;15(2):578. Disponible

- en:http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612017000400052
12. Montero M, Mira J, Avilés D, Pazmiñes P, Erazo R. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre una cepa de *Staphylococcus aureus* Rev. investig. vet. Perú [Internet] 2018; 29(2): 588-593. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v29n2/a23v29n2.pdf>
 13. Lopez M. Tomillo, Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. Offarm [Internet]. 2006; 25(1):74-77. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13083626>
 14. Argote F, Suarez Z, Tobar M, Perez J, Hurtado A, Delgado J. Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli*. Rev. Bio. Agro [Internet]. 2017; 15 (2): 578 Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612017000400052
 15. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. NTC 4516. Microbiología de alimentos y productos de alimentación animal. Método horizontal para la detección y enumeración de coliformes técnica del número más probable. ICONTEC; 2009.
 16. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. NTC 4574. Microbiología de alimentos y de alimentos para animales. Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp. ICONTEC; 2007.
 17. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. NTC 1443. Productos de la pesca y de la acuicultura. Pescado entero, medallones, filetes y trozos (refrigerados o congelados). ICONTEC; 2016
 18. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Aseguramiento de la calidad de los productos pesqueros [Internet]. Dinamarca: H.H. Huss; Disponible en: <https://www.fao.org/3/t1768s/T1768S00.htm#TOC>
 19. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. Int J Food Microbiol. 2004;94(3):223–253. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15246235>
 20. Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Antibacterial activity of essential oils of oregano, rosemary and sage against pathogenic bacteria. Food Control. 2008;19(7):681–687. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01489.x>
 21. Kokkini S, Karousou R, Dardioti A, Krigas N, Lanaras T. Autumn essential oils of Greek oregano. Phytochemistry. 1997;44(5):883–886. <https://agris.fao.org/search/en/detail.html?recordID=US2024005305>

22. Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front Microbiol.* 2012;3:1–24.<https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>
23. Mockute D, Bernotiene G, Judzentiene A. Chemical composition of essential oils of *Origanum vulgare* L. growing in different environments. *Chemija.* 2001;12(2):89–92.https://www.researchgate.net/publication/277093505_Chemical_composition_of_essential_oils_of_Origanum_vulgare_L_growing_in_Lithuania
24. Vokou D, Kokkini S, Bessiere JM. Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochem Syst Ecol.* 1993;21(2):287–295.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030519789390047U>
25. Leyva-López N, Gutiérrez-Grijalva EP, Vazquez-Olivo G, Heredia JB. Essential oils of oregano: biological activity beyond their antimicrobial properties. *Molecules.* 2017;22(6):989.<https://www.mdpi.com/1420-3049/22/6/989>
26. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4931539/?utm_source=chatgpt.com
27. Tyson JL, Harrison MA. Effect of oregano essential oil on microbial load and sensory attributes of dried meat. *J Food Prot.* 2016;79(10):1736-1741.
Disponibile en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26917258/>
28. Seydim AC, Sarikus G. Antibacterial activity of soy edible coatings incorporated with oregano essential oil on beef against pathogenic bacteria. *Food Control.* 2006.<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30263643/>
29. Alvarez MV, Ortega-Ramirez LA, Silva-Espinoza BA, Gonzalez-Aguilar GA, Ayala-Zavala JF. Antimicrobial, antioxidant, and sensorial impacts of oregano and rosemary essential oils over broccoli florets. *J Food Process Preserv* [Internet]. 2019;43(3):Not Available. Disponibile en: <http://dx.doi.org/10.1111/jfpp.13889>
30. Moore-Neibel K, Gerber C, Patel J, Friedman M, Jaroni D, Ravishankar S. Antimicrobial activity of oregano oil against antibiotic-resistant *Salmonella enterica* on organic leafy greens at varying exposure times and storage temperatures. *Food Microbiol* [Internet]. 2013;34(1):123–9. Disponibile en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2012.12.001>
31. Shu W, Deng Z, Liu L, Zhang J, Li D. Effectiveness of oregano essential oil vapor on shelf life extension of kai lan (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*). *J Food Sci* [Internet]. 2025;90(1):e17673. Disponibile en: <http://dx.doi.org/10.1111/1750-3841.17673>

32. Pirozzi A, Del Grosso V, Ferrari G, Donsì F. Edible coatings containing oregano essential oil nanoemulsion for improving postharvest quality and shelf life of tomatoes. *Foods* [Internet]. 2020;9(11):E1605. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/foods9111605>
33. Liguori G, Greco G, Salsi G, Garofalo G, Gaglio R, Barbera M, et al. Effect of the gellan-based edible coating enriched with oregano essential oil on the preservation of the 'Tardivo di Ciaculli' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco cv. Tardivo di Ciaculli). *Front Sustain Food Syst* [Internet]. 2024;8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fsufs.2024.1334030>
34. Mdpi.com. [citado el 29 de abril de 2026]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6412/13/8/1387>
35. Reynoso-Escobedo H, Sinagawa-García SR, Rico-Costilla DS, Luna-Maldonado AI, García-Treviño NE, Flores-Girón E, et al. Efecto del aceite de orégano en la vida de anaquel de carne de bovino. *Cienc Ergo Sum*. 2024;32. doi:10.30878/ces.v32n0a18
36. Alejandro OOJ. Efecto conservante y antioxidante del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Rosmarinus officinalis* en chorizo santandereano [Internet]. 2020 [citado 2026 Abr 28]. Disponible en: <http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/4751>
37. Bot detection [Internet]. Edu.co. [citado el 29 de abril de 2026]. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/entities/publication/7737501b-3b09-4804-bb2c-401d0d65f307>