

EFFECTO ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *SALVIA OFFICINALIS* L. SOBRE MICROORGANISMOS PÁTOGENOS TRANSMITIDOS POR ALIMENTOS

ANTIMICROBIAL EFFECT OF ESSENTIAL OIL FROM *SALVIA OFFICINALIS* L. ON FOOD RELATED MICROORGANISMS

Lina M. López-De Ávila^{1,3}, Hader I. Castaño-Peláez^{2,4}, Carlos E. Mejía-Gómez^{1,5}

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Salvia officinalis* L. sobre microorganismos transmitidos por alimentos con alto potencial patogénico en humanos. Para determinar su efectividad como alternativa en la conservación de alimentos se comparó con la actividad antimicrobiana de compuestos químicos utilizados ampliamente en la industria de alimentos. El aceite esencial de *S. officinalis* demostró un amplio espectro de inhibición microbiana sobre microorganismos Gram positivos y Gram negativos. La concentración inhibitoria mínima (CIM) estuvo entre 1 y 4 mg/ml para todas las bacterias evaluadas. Estos resultados muestran que el aceite esencial de *S. officinalis* puede ser utilizado para mejorar la inocuidad y tiempo de vida útil de productos alimenticios.

Palabras clave: aceites esenciales, actividad antimicrobiana, conservación de alimentos, inocuidad alimentaria, *Salvia officinalis*

Abstract

The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of essential oil from *Salvia officinalis* L. on microorganisms transmitted by foods with a high pathogenic potential in humans. To determine its effectiveness as an alternative for preserving food, it was compared to the antimicrobial activity of chemical compounds used widely in the food industry. The essential oil of *S. officinalis* showed a broad spectrum of microbial inhibition for both gram positive and gram negative microorganisms. Minimum Inhibitory Concentration (CIM) was between 1 and 4 mg/ml for all bacteria tested. These results show that the essential oil from *S. officinalis* may be used to improve the safety and shelf life of food products.

Key words: antimicrobial activity, essential oils, food conservation, food safety, *Salvia officinalis*

INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas las innovaciones en las técnicas de producción de alimentos y el interés creciente por la inocuidad alimentaria han llevado a los consumidores a exigir productos con menos aditivos sintéticos y con

un menor impacto sobre el medio ambiente. Los preservantes químicos aunque han sido usados durante muchos años para el control del crecimiento microbiano, generan gran controversia por los efectos secundarios sobre la salud humana (Reische et al. 1998). Sin embargo, la proliferación de microorganismos

Recibido: febrero de 2012; aceptado: marzo de 2013.

¹ Grupo Biotransformación, Universidad de Antioquia. A. A. 1226. Medellín (Antioquia), Colombia.

² Grupo COINDE, Politécnico Colombiano Jaime Isaza Cadavid. A. A. 4932. Medellín (Antioquia), Colombia.

Correos electrónicos: ³ <lina_deavila@yahoo.es>; ⁴ <carlosemejiag@gmail.com>; ⁵ <hicastano@elpoli.edu.co>.

en los alimentos es un problema importante, que puede conducir al deterioro de la calidad de los productos o lo que es más grave, causar enfermedades. Numerosas investigaciones se han centrado en compuestos biológicamente activos extraídos de plantas para combatir microorganismos patógenos debido a la resistencia que han alcanzado estos contra los antibióticos (Essawi et al. 2000). Este hecho es crítico por la ingesta de alimentos con residuales de antibióticos, que se contaminan por las prácticas indebidas del eslabón pecuario de la cadena alimentaria. Es por esto que se hace necesaria la búsqueda de nuevas formas para reducir o eliminar el crecimiento de microorganismos patógenos durante la vida útil de los productos y reducir los riesgos de los peligros químicos en la fabricación de alimentos.

La demanda por alimentos más naturales ha llevado a los investigadores a desarrollar nuevos agentes antimicrobianos a partir de extractos de plantas tradicionalmente reconocidas por sus múltiples propiedades. Los aceites esenciales son líquidos aceitosos aromáticos obtenidos por medio de hidrodestilación a partir de material vegetal (flores, tallos, raíces, hojas, frutos, y semillas) (Burt 2004). Algunos de estos aceites esenciales y otros extractos de plantas poseen características antibacterianas, antifúngicas y antivirales que han sido evaluadas como una fuente potencial de nuevos compuestos antimicrobianos, como alternativas para la preservación de alimentos y para el tratamiento de enfermedades infecciosas (Solorzano et al. 2011).

Las plantas del género *Salvia*, con cerca de 900 especies han sido utilizadas en fitopreparaciones y productos alimenticios en todo el mundo. La especie más popular, *Salvia officinalis* se ha empleado de manera extensiva en la preparación de alimentos como agente preservante y como especia (Piccaglia 1998), en la industria cosmética (Longaray et al. 2007), como protector de la radiación UV (Svobodová et al. 2003), y el

tratamiento de una gran variedad de enfermedades (Perry et al. 2005) (Loizzo et al. 2007) (Eidi et al. 2009). La actividad antimicrobiana de *S. officinalis* ha sido reconocida y se ha atribuido a la presencia de compuestos fenólicos, como el 1,8-cineol, tujona y canfor (Dorman y Deans 2000), en concentraciones que pueden variar de acuerdo a condiciones ecológicas y estacionales (Khalil y Li 2011). Además, se ha demostrado que los compuestos minoritarios pueden tener un efecto sinérgico de gran importancia (Bouaziz et al. 2009).

Muchos investigadores han evaluado la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *S. officinalis* frente a numerosos microorganismos involucrados en alteraciones o con enfermedades transmitidas por alimentos. Hayouni et al. (2008) advirtieron actividad antibacterial de estos aceites esenciales contra *Salmonella* spp. en muestras de carne. Otros estudios han demostrado la efectividad de aceites esenciales de salvia, tomillo y eucalipto empleados en forma combinada para el control de bacterias marinas (Mousavi et al. 2011).

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Salvia officinalis* sobre un grupo de microorganismos patógenos asociados a alimentos, determinar la concentración inhibitoria mínima y comparar la actividad de este aceite esencial con la de los conservantes químicos permitidos por la legislación colombiana (Resolución 4125 de 1991). De esta manera se pretende contribuir con el estudio de actividades de sustancias alternativas para el control microbiano y la conservación de alimentos, y que den respuestas a las necesidades de la gestión de la inocuidad en la cadena alimentaria.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del material. El aceite esencial fue obtenido en Biocorp (Medellín, Colombia) y

fue extraído de hojas de *S. officinalis* L., por hidrodestilación. Se prepararon soluciones de aceite esencial en concentraciones desde 0,008 hasta 82 mg/ml suplementadas con 0,5% de Tween 80 para lograr la solubilidad del aceite esencial.

Conservantes químicos. Los conservantes empleados en este trabajo fueron ácido sórbico, ácido benzoico, sorbato de potasio, benzoato de sodio y nisina, todos comprados en el mercado local. Todos los conservantes fueron preparados en solución acuosa en concentraciones de 1,0 hasta 0,002 mg/ml, de acuerdo a las concentraciones máximas permitidas en Colombia, según la Resolución 4125 de 1991 y se mantuvieron a 4 °C.

Cepas bacterianas. Los microorganismos empleados en los ensayos de actividad antimicrobiana fueron: *Bacillus cereus* CC85, *Escherichia coli* O157:H7 (aislada paciente SUH), *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Shigella sonnei* ATCC 29930 y *Staphylococcus aureus* ATCC 2592. Todos los microorganismos fueron mantenidos en caldo tripticasa soya (TSB) y fueron repicados semanalmente. Se realizaron stocks criopreservados en TSB suplementado con glicerol al 30% (v/v) y almacenados a -20 °C.

Para obtener los subcultivos, se resuspendió un criovial en TSB y se incubó a 37 °C por 18 h a 150 rpm. A partir de estos subcultivos se prepararon los cultivos de trabajo, que fueron ajustados a una concentración de 10⁵ UFC/ml; previamente se estimó la cinética de crecimiento de cada microorganismo bajo las condiciones descritas.

Ensayo de actividad antimicrobiana. La concentración inhibitoria mínima (CIM) de los conservantes convencionales y de los aceites esenciales fue determinada por el método de micro dilución en caldo propuesto por Abate

et al. (1998), con algunas modificaciones. Se adicionaron 50 µl de cada suspensión bacteriana en cada pozo de un plato de 96 pozos que contenía 50 µl de cada concentración de cada antimicrobiano a evaluar, además se adicionaron 100 µl de caldo TSB. El volumen final de cada pozo fue de 200 µl, los controles fueron preparados con la suspensión bacteriana o el antimicrobiano únicamente. Para el caso de los aceites esenciales se incluyó otro control de crecimiento con la suspensión bacteriana y Tween 80 al 0,5% (v/v) para descartar inhibición del crecimiento por el Tween 80. Los platos fueron mezclados y se incubaron a 37 °C por 24 h. La CIM fue la concentración más baja a la cual no se observó viabilidad celular después de 24 h de incubación; la viabilidad celular fue determinada por la adición de 0,5 mg/ml de bromuro 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazol (MTT) disuelto en PBS, incubando a 37 °C por 1 h (Abate et al. 1998). La viabilidad celular se determinó por cambio de coloración en el pozo de amarillo a azul, evidenciando la actividad respiratoria de las células viables. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado.

RESULTADOS

En este trabajo se evaluó la CIM de los aceites esenciales de *Salvia officinalis* contra un panel de 6 microorganismos seleccionados por su relevancia como contaminantes de alimentos y su potencial patogénico en seres humanos; además se evaluaron como controles los conservantes permitidos por la legislación colombiana: ácido sórbico, ácido benzoico, benzoato de sodio y sorbato de potasio y nisina. Se demostró la ineficacia del benzoato de sodio y sorbato de potasio en la inhibición del crecimiento de todos los microorganismos evaluados, estos compuestos no presentaron actividad bacteriostática, ni bactericida (tabla 1). El ácido sórbico y ácido benzoico mostraron actividad bacteriostática a una concentración de 1,0 mg/ml, que es la concentración máxima permitida

para este tipo de conservantes (tabla 1) según la legislación actual en Colombia. La nisina mostró una mayor actividad antimicrobiana que los ácidos orgánicos, principalmente sobre bacterias Gram positivas (tabla 1). Con respecto a la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Salvia officinalis* se observó una clara actividad bactericida del aceite contra todos los microorganismos evaluados. Las bacterias que mostraron una mayor sensibilidad a este aceite fueron *B. cereus* y *S. sonnei* que fueron inhibidas a una concentración de 1,0 mg/ml. La CIM para inhibir el crecimiento de *E. coli* O157:H7, *L. Monocytogenes*, *S. typhimurium* y *S. aureus* fue 4,0 mg/ml (tabla 1).

DISCUSIÓN

La baja actividad antimicrobiana de los conservantes químicos control puede deberse a las condiciones que ofrece el ambiente en el que fueron evaluados in vitro, posiblemente el pH no fue lo suficientemente bajo para permitir el estado no asociado de la molécula que le permite ingresar libremente a la célula bacteriana a través de la membrana plasmática.

En el caso específico de la nisina, las bacterias Gram negativas suelen ser más resistentes a la nisina debido a la composición de lipopolisacárido (**LPS**) de la pared celular que actúa como una barrera a la acción de esta bacteriocina en la membrana plasmática (Arauz et al. 2009). Esta bacteriocina es activa contra bacterias Gram negativas solo cuando se usa en altas concentraciones o luego de un pretratamiento con EDTA o choque osmótico para debilitar el LPS (Stevens et al. 1991). Pocos trabajos describen el aislamiento de bacteriocinas de amplio espectro antimicrobiano; Todorov et al. (2005), informaron el aislamiento de dos bacteriocinas capaces de inhibir el crecimiento de *P. aeruginosa* y *E. coli*. Otros autores han señalado el uso de nisina en combinación con aceites esenciales de orégano demostrando una mayor actividad antimicrobiana contra *S. enteritidis* que cuando se usan ambos conservantes por separado (Govaris et al. 2010).

Como alternativa al uso de compuestos químicos para la preservación de alimentos, se propone la utilización de los aceites esenciales presentes en plantas aromáticas de reconocido efecto

Tabla 1. Concentración inhibitoria mínima conservantes químicos y naturales para microorganismos patógenos transmitidos por alimentos (* = promedio de tres replicas; E 211 = benzoato de sodio; E 202 = sorbato de potasio; C₆H₈O₂ = ácido sórbico; C₆H₅-COOH = ácido benzoico; ac = aceite esencial)

Microorganismos	Concentración inhibitoria mínima (mg/ml)*					
	E 211	E 202	C ₆ H ₈ O ₂	C ₆ H ₅ -COOH	nisina	ac
<i>B. cereus</i>	> 1,0	> 1,0	--	> 1,0	0,13	1,0
<i>E. coli</i> O157:H7	> 1,0	> 1,0	> 1,0	> 1,0	0,26	4,0
<i>L. monocytogenes</i>	> 1,0	> 1,0	> 1,0	> 1,0	0,06	4,0
<i>P. aeruginosa</i>	> 1,0	> 1,0	> 1,0	> 1,0	0,26	2,0
<i>S. aureus</i>	> 1,0	> 1,0	> 1,0	> 1,0	0,26	4,0
<i>S. sonnei</i>	> 1,0	> 1,0	> 1,0	> 1,0	1,0	1,0
<i>S. typhimurium</i>	> 1,0	> 1,0	> 1,0	> 1,0	1,0	4,0

antimicrobiano, y que representan una parte importante de la farmacopea tradicional de muchos países. Se han registrado gran cantidad de aceites esenciales con actividad antibacteriana, anti fúngica e insecticida. Entre los aceites registrados con mayor actividad antimicrobiana contra un amplio número de microorganismos patógenos se encuentran los aceites esenciales de *S. officinalis*. Pinto et al. (2007) comunicaron un amplio espectro anti fúngico de estos aceites esenciales, especialmente contra dermatofitos. También se han descrito propiedades desinfectantes de estos aceites; la aplicación de del aceite de *S. officinalis* en concentraciones de 0,5 y 1,0% (v/v) resultó en la reducción de la viabilidad de bacterias como *B. cereus* CTM 225, *B. liqueniformis* ATCC 8480, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 10536 y *S. enterica* CIP 80,39 en 5 log/ml (Bouaziz et al. 2009).

En general se puede observar que la actividad antimicrobiana de este aceite esencial es de amplio espectro inhibiendo el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas, encontrándose diferencias con lo informado por Longaray et al. (2007), quienes encontraron mayor actividad de los aceites esenciales de las plantas sobre bacterias Gram positivas. La mayor resistencia de las bacterias Gram negativas puede ser adscrita a la presencia de la membrana fosfolípida exterior, haciéndola casi impermeable a los compuestos lipofílicos. La ausencia de esta barrera en las bacterias Gram positivas permite que los compuestos de los aceites esenciales interaccionen con la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular, causando un incremento en la permeabilidad de la célula o unión en sitios específicos de transporte (Cowan et al. 1999). Los resultados encontrados en este estudio concuerdan con los indicados por Khalil et al. (2011) que demostraron una fuerte actividad antimicrobiana de aceites esenciales de *S. officinalis* contra bacterias Gram positivas y Gram negativas. El amplio espectro del aceite esencial se puede

explicar en la naturaleza hidrofílica y lipofílica de los diferentes compuestos presentes en el aceite esencial de *Salvia officinalis*, que le confieren esa característica importante para ser considerada una fuente natural alternativa de conservación de la calidad y la inocuidad de los alimentos.

El espectro de actividad antimicrobiana obtenido con el aceite esencial de *S. officinalis* fue muy similar a los registrados por Longaray et al. (2007), mostrando mayor actividad contra *E. coli*, *S. aureus* y *S. typhimurium* al comparar las CIM informadas por estos autores (5-10 mg/ml). Los aceites esenciales de *S. officinalis* y *S. triloba* exhibieron una marcada actividad bactericida contra *Aeromonas hydrophila*, *B. cereus* y *B. subtilis*, y mostró una pobre actividad contra *E. coli* y *S. aureus* (Longaray et al. 2007). Tepe et al. (2005) demostraron que el aceite esencial de *S. tomentosa* posee una fuerte actividad antimicrobiana, sin embargo se observó una actividad baja contra microorganismos Gram negativos, evidenciando que existen diferencias de actividad entre las diferentes especies de *Salvia*; esto se explica por la relación que existe entre la especie y las diferencia en los perfiles de composición de los aceites de cada especie de *Salvia*. Otro estudio evaluó el efecto de aceites esenciales de *Salvia sclarea* y otras plantas aromáticas sobre levaduras contaminantes de jugos de fruta y leche; encontrando un considerable aumento de la fase de adaptación de las levaduras evaluadas (Tserennadmid et al. 2011).

Estos resultados contribuyen en dar respuestas a las necesidades de los gobiernos, agencias regulatorias, fabricantes de alimentos y consumidores; frente al uso de agentes conservantes de alimentos de origen natural, que aseguren la inocuidad y la calidad de anaquel de los alimentos procesados, en un ámbito de salud pública que se caracteriza en la actualidad por incremento de la resistencia a antibióticos de los microorganismos, mayor toma de conciencia

de los consumidores frente a lo que consumen y la globalización de las ETA por causa de la globalización de los mercados alimentarios.

Muchos estudios han registrado la actividad antimicrobiana de aceites esenciales y extractos de múltiples especies de *Salvia* (Cardile et al. 2009, Longaray et al. 2007, Khalil et al. 2011, Ozkan et al. 2010, Tepe et al. 2005, Tserennadmid et al. 2011); sin embargo, este es el primer informe respecto a la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *S. officinalis* y su comparación con los conservantes químicos permitidos en Colombia y soporta observaciones de otros investigadores con otros aceites esenciales (Castaño et al. 2010).

CONCLUSIONES

El aceite esencial de *Salvia officinalis* demostró actividad antimicrobiana contra microorganismos patógenos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos, logrando CIM entre 1 y 4 mg/ml. El efecto bactericida de estos aceites presentó mayor efecto inhibitorio que los conservantes químicos convencionales utilizados en la industria de alimentos. De acuerdo con estos resultados, estos aceites esenciales pueden convertirse en una excelente alternativa para mejorar la inocuidad y el tiempo de vida útil de los alimentos, teniendo en cuenta la baja actividad de los conservantes químicos evaluados sobre este tipo de microorganismos; y permiten dar respuesta a las necesidades de la industria alimentaria en lo referente al uso de conservantes de origen natural y sin riesgo para la salud de los consumidores.

AGRADECIMIENTOS

Al programa de Gestión Tecnológica de la Universidad de Antioquia por el apoyo financiero para el desarrollo de este estudio.

REFERENCIAS

- Abate G, Mshana RN, Miorner H. 1998. Evaluation of a colorimetric assay based on 3-(4,5-dimethyl-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide for rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, 2: 1011-1016.
- Arauz L, Faustino A, Gava P, Vessoni T. 2009. Nisin biotechnological production and application: a review. Trends in Food Science and Technology, 20: 146-154.
- Bouaziz M, Yangui T, Sami S, Abdelhafidh D. 2009. Desinfectant properties of essential oils from *Salvia officinalis* L. cultivated in Tunisia. Food and Chemical Toxicology, 47: 2755-2760.
- Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.
- Cardile V, Russo A, Formisano C, Rigano D, Senatore F, Arnold NA, Piozzi F. 2009. Essential oils of *Salvia bracteata* and *Salvia rubifolia* from Lebanon: Chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells. Journal of Ethnopharmacology, 126: 265-272.
- Castaño H, Ciro G, Zapata J, Jiménez S. 2010. Actividad bactericida del extracto etanólico y del aceite esencial de hojas de *Rosmarinus officinalis* L. sobre algunas bacterias de interés alimentario. Vitae, 17 (2): 149-154.
- Cowan M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews, 12: 564-582.
- Dorman H, Deans S. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils. Journal of Applied Microbiology, 88: 308-316.
- Eidi A, Eidi M. 2009. Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes and metabolic syndrome. Clinical Research Reviews, 3: 40-44.
- Essawi T, Srour M. 2000. Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal of Ethnopharmacology, 70: 343-349.
- Govaris A, Solomakos N, Pexara A, Chatzopoulou PS. 2010. The antimicrobial effect of oregano essential oils, nisin and their combination against *Salmonella enteritidis* in minced sheep meat during refrigerated storage. International Journal of Food Microbiology, 137: 175-180.
- Hayouni EK, Chraief I, Abedrabba M, Bouix M, Leveau JY, Mohammed H, Hamdi M. 2008. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essential oils: Their chemical compositions and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. International Journal of Food Microbiology, 125: 242-251.
- Khalil R, Li Z. 2011. Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. African Journal of Biotechnology, 10 (42): 8397-8402.

- Longaray A, Moshen-Pistorello I, Artico L, Atti-Sefarini L, Echeverrigaray S. 2007. Antibacterial activity of the essential of *Salvia officinalis* L. and *Salvia tribola* cultivated in south of Brazil. *Food Chemistry*, 100: 603-608.
- Loizzo M, Tundis R, Menichini F, Saab A, Statti G, Menichini F. 2007. Cytotoxic activity of essential oils from Labiatae and Lauraceae families against in vitro human tumor models. *Anticancer Research*, 27 (5), 3293-3299.
- Mousavi SM, Wilson G, Raftos D, Mirzargar S, Omidbaigi R. 2011. Antibacterial activities of a new combination of essential oils against marine bacteria. *Aquaculture International*, 19: 205-214.
- Ozcan G, Sagdic A, Gokturk R, Unal O, Albayrak S. 2010. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extract from *Salvia pisidica*. *Food Science and Technology*, 43: 186-190.
- Perry E, Pickering A, Wang W, Houghton P, Perry N. 2005. Medicinal plants and Alzheimer's disease: from ethnobotany to phototherapy. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51: 527-534.
- Piccaglia R. 1998. Aromatic plants: a world of flavouring compounds. *Agro Food Industry Hi Tech*, 9 (3): 12-15.
- Pinto E, Salgueiro L, Cavaleiro C, Palmeira A, Goncalves M. 2007. In vitro susceptibility of some species of yeast and filamentous fungi to essential oils of *Salvia officinalis*. *Industrial Crops and Products*, 26: 135-141.
- Solorzano F, Miranda MG. 2011. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23: 1-6.
- Stevens KA, Sheldon BW, Klapes NA, Klaenhammer T. 1991. Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other Gram negative bacteria. *Applied Environmental Microbiology*, 57: 3613-3615.
- Svobodová A, Psotová J, Walterová D. 2003. Natural phenolics in the prevention of UV induced skin damage. *Biomedical Papers*, 147: 137-145.
- Reische D, Lillard D, Eintenmiller R. 1998. Antioxidants in food lipids. New York (U. S. A.): C. C. Ahoh & D. B. Min. p. 423.
- Resolución 4125 [Internet]. 1991. Ministerio de Salud, Colombia. Fecha de acceso: 25 de Noviembre de 2011. Disponible en: <http://web.invima.gov.co/portal/documents/portal/documents/root/resolucion_4125_1991.pdf>.
- Tepe B, Daferera D, Sokmen A, Sokmen M, Polissiou M. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90: 333-340.
- Todorov S, Dicks L. 2005. *Lactobacillus plantarum* isolated from molasses produces bacteriocins active against Gram-negative bacteria. *Enzyme and Microbial Technology*, 36: 318-326.
- Tserennadmid R, Takó M, Galgóczy L, Papp T, Pesti M, Vágvölgyi C, Almássy K, Krisch J. 2011. Anti yeast activities of some essential oils in growth medium, fruit juices and milk. *International Journal of Food Microbiology*, 144: 480-486.