



Actividad antimicrobiana de aceite esencial de tomillo

(*Thymus vulgaris*)

A. Rosas-Gallo* y A. López-Malo

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Fundación Universidad de las Américas Puebla.
Exhacienda Sta. Catarina Mártir S/N, Cholula, Puebla. C.P.72810. México.

Resumen

El uso de agentes químicos, especialmente los llamados agentes antimicrobianos, es parte de los métodos de conservación más antiguos y tradicionales que existen. Sin embargo, la incorporación de estos agentes a los alimentos evita que estos cumplan con el concepto de natural o “libre de conservadores” que los consumidores demandan actualmente. Por lo que en la presente revisión se explica la importancia de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales, principalmente del aceite esencial de tomillo, como posible fuente de compuestos antimicrobianos naturales.

Palabras clave: tomillo, aceites esenciales, compuestos fenólicos, carvacrol, timol.

Abstract

The use of chemical agents, especially those known as antimicrobial agents, are among the oldest and traditional preservation methods utilized. However, their incorporation into food does not meet the concept of natural or "preservative free" that consumers demand. This review explains the importance of the antimicrobial activity of essential oils, as possible sources of natural antimicrobials.

Keywords: thyme, essential oils, phenol compounds carvacrol, thymol.

Introducción

Giese (1994) menciona que la seguridad de los alimentos se incrementa y asegura por el uso de compuestos llamados antimicrobianos, ya que estas sustancias se añaden a los alimentos para prevenir y detener la descomposición microbiana. La manera más importante de pérdida de la

calidad en alimentos, es aquella asociada con el deterioro microbiano y en particular con la presencia y/o crecimiento de microorganismos patógenos. Esto ha llevado a investigar el uso y modo de acción de los conservadores disponibles a fin de emplearlos más eficientemente y a estudiar su aplicación al combinarlos con otras formas tradicionales y no tradicionales de preservación. Las formas conocidas de combatir los efectos deteriorativos de los microorganismos en alimentos incluyen: la prevención de su acceso a los alimentos, la

*Programa de Maestría en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126, fax: +52 222 229 2727
Dirección electrónica: anabel.rosasgo@udlap.mx

inactivación de los mismos y la disminución o inhibición de su crecimiento (Gould y Russell, 1991). Los agentes antimicrobianos pueden ser compuestos sintéticos adicionados intencionalmente a los alimentos o compuestos naturales que son sustancias de origen biológico (también denominados antimicrobianos naturales) y que pueden usarse comercialmente como aditivos para conservar alimentos.

Una amplia variedad de antimicrobianos naturales han sido obtenidos a partir de microorganismos, animales y plantas. Un gran número de ellos ya son empleados para la conservación de alimentos, mientras que muchos otros están siendo estudiados.

Entre los antimicrobianos naturales más estudiados se encuentran los presentes en plantas, las hierbas y especias. En la Tabla I se listan algunas de las especies, hierbas y plantas que se han estudiado como posibles fuentes de antimicrobianos. Se reconoce que los componentes activos en muchas plantas, hierbas y especias son compuestos fenólicos y aceites esenciales. De acuerdo con Shelef (1983), los compuestos fenólicos son probablemente los componentes antimicrobianos mayoritarios presentes en los aceites esenciales de especias. El uso de aceites esenciales extraídos de diferentes frutos cítricos o plantas aromáticas, ha sido muy estudiado, y se ha comprobado que estas sustancias en combinación con otros agentes de estrés microbiano dan mejor resultado en la conservación de los alimentos, que el uso de antimicrobianos tradicionales por sí solos.

Se ha reportado que algunos de éstos compuestos fenólicos tienen un amplio espectro de efectividad contra los microorganismos, como el timol extraído del tomillo y del orégano, el aldehido cinámico extraído de la canela y el eugenol extraído de clavos. La vainillina, compuesto presente en

las vainas de la vainilla, es estructuralmente similar al eugenol y tiene también actividad antimicótica (Beuchat y Golden, 1989; López-Malo *et al.*, 2005). En general se reporta que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales depende de la estructura química de sus componentes, especialmente se reconoce que los alcoholes alifáticos y fenoles exhiben acción inhibitoria para el crecimiento de hongos (Farag *et al.*, 1989; López-Malo *et al.*, 2005).

En investigaciones recientes se ha demostrado que el aceite esencial de tomillo tiene compuestos fenólicos entre los cuales están el timol, anetol y boneol en las hojas y carvacrol y anetol en toda la planta (Baltazar, 2003).

Por lo anterior, en este trabajo se revisarán aspectos sobre los usos de aceites esenciales como agentes antimicrobianos naturales, haciendo énfasis en el aceite esencial de tomillo.

Revisión bibliográfica

1. Agentes antimicrobianos

Anteriormente se utilizaban algunos tipos de agentes que parecían útiles para la conservación de los alimentos; ya que se notaba que al agregarlos, el alimento duraba más tiempo, ejemplo de ello es la sal común, y ésta se ha utilizado para preservar alimentos tales como carne, pescados, mariscos, frutas y otros productos.

Con el paso de los años y las investigaciones se ha llegado a saber que la velocidad de deterioro microbiano en alimentos no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de

Tabla I. Algunas especias, hierbas y condimentos evaluados como posibles antimicrobianos.

Albahaca (Basil)	<i>Ocimum basilicum</i>
Laurel (Bay)	<i>Laurus nobilis</i>
Cilantro (Coriander)	<i>Coriandrum sativum</i>
Canela (Cinnamon)	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>
Clavo (Clove)	<i>Syzygium aromaticum</i>
Comino (Cumin)	<i>Cuminum cyminum</i>
Eneldo (Dill)	<i>Anethum graveolens</i>
Hinojo (Fennel)	<i>Foeniculum vulgare</i>
Ajo (Garlic)	<i>Allium sativum</i>
Jenjibre (Ginger)	<i>Zingiber officinale</i>
Te-limón (Lemongrass)	<i>Cymbopogon citratus</i>
Mejorana (Marjoram)	<i>Origanum majorana</i>
Menta (Mint)	<i>Mentha vulgaris, M. spicata</i>
Mostaza (Mustad)	<i>Brassica hirta, B. juncea, B. nigra</i>
Cebolla (Onion)	<i>Allium cepa</i>
Orégano (Oregano)	<i>Origanum vulgare</i>
Perejil (Parsley)	<i>Petroselinum crispum</i>
Pimienta (Pepper)	<i>Piper nigrum</i>
Romero (Rosemary)	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Tomillo (Thyme)	<i>Thymus vulgaris</i>
Vainilla (Vanilla)	<i>Vanilla planifolia, V. pompona, V. tahilensis</i>

la composición química del producto y de la carga microbiana inicial. Los antimicrobianos son compuestos químicos añadidos o presentes en los alimentos que retardan el crecimiento microbiano o inactivan a los microorganismos y por lo tanto detienen el deterioro de la calidad y mantienen la seguridad del alimento (Baltazar, 2003).

Muchos investigadores han llegado a la conclusión en que la evolución de aditivos para alimentos debe basarse en un balance entre los riesgos y beneficios (Baltazar, 2003), de esta manera en un futuro los aditivos benéficos serán aquellos que

contengan o cumplan con varias funciones, dependiendo del alimento al cual se añadan.

Actualmente se producen antimicrobianos en forma sintética, pero estos también se encuentran presentes en forma natural como componentes de diversos alimentos. De tal manera que los compuestos químicos de acción antimicrobiana y que se encuentran en los alimentos pueden clasificarse como aditivos tradicionales con acción directa o indirecta (Moreno, 2002).

1.2 Agentes antimicrobianos sintéticos

Uno de los factores que gobierna el crecimiento de los microorganismos en los

alimentos es el pH. En general las bacterias crecen a pH cercanos a la neutralidad (pH 6.5 a 7.5); sin embargo, son capaces de tolerar un rango de pH entre 4 y 9. A diferencia de éstas, los mohos y las levaduras toleran un rango más amplio de pH para su crecimiento, ya que pueden crecer a pH por debajo de 3.5. Las levaduras y mohos deteriorativos proliferan más comúnmente en frutas y vegetales debido a sus características inherentes como su bajo pH y baja capacidad reguladora (Monou *et al.*, 1998). Una manera efectiva de limitar el crecimiento de los microorganismos es incrementar la acidez del alimento. La capacidad de limitar el crecimiento de los microorganismos dependerá del tipo de microorganismo, especie, tipo y concentración del ácido, tiempo de exposición y la capacidad reguladora del alimento.

La actividad de los ácidos orgánicos utilizados como agentes antimicrobianos es totalmente dependiente del pH y de la capacidad de disociación del ácido (pKa), ya que como se ha señalado la forma no-disociada del ácido es la responsable de la actividad antimicrobiana. En consecuencia al escoger un ácido orgánico como aditivo alimentario antimicrobiano, hay que tener en consideración tanto el pH del producto como el pKa del ácido.

El uso de ácidos orgánicos se restringe generalmente a alimentos con pH menor de 5.5, debido a que la mayor parte de los ácidos orgánicos tienen pKas entre 3.0 y 5.0 (Ultee *et al.*, 2000). El modo de acción de los ácidos orgánicos utilizados como agentes antimicrobianos (sorbitos, benzoatos, propionatos), en la inhibición del crecimiento microbiano parece estar relacionado con el mantenimiento del equilibrio ácido-base, la donación de protones y la producción de energía por las células. Los sistemas biológicos y químicos

dependen de la interacción entre los sistemas ácido-base. La célula microbiana normalmente refleja este equilibrio atendiendo al mantenimiento de un pH interno cercano a la neutralidad.

La homeostasis es la tendencia de una célula a sostener un equilibrio químico a pesar de las fluctuaciones en el ambiente. Este balance se mantiene por medio de la interacción de una serie de mecanismos químicos, causando alteración y destrucción de las células microbianas. Las proteínas, los ácidos nucleicos y fosfolípidos pueden ser alterados estructuralmente por los cambios de pH (Dorman y Deans, 2000).

1.3 *Antimicrobianos naturales*

Muchos alimentos contienen compuestos naturales con actividad antimicrobiana. En estado natural, estos compuestos pueden desempeñar el papel de prolongadores de la vida útil de los alimentos. Incluso muchos de ellos han sido estudiados por su potencial como antimicrobianos alimentarios directos. El uso de aditivos alimentarios de origen natural implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos con fines antimicrobianos a los alimentos sin que ello afecte negativamente a las características sensoriales, nutritivas y a su garantía sanitaria (Suhr y Nielsen, 2003). Esto tiene que lograrse manteniendo los costos de formulación, procesado o comercialización.

Los sistemas antimicrobianos naturales pueden clasificarse por su origen, de tal forma existen antimicrobianos de origen animal, vegetal o microbiano. El primero de estos grupos incluye proteínas, enzimas líticas tales como lisozima, hidrolasas tales como lipasas y proteasas (Dorman y Deans, 2000) y polisacáridos como el quitosano (Lambert *et. al.*, 2001). El segundo grupo incluye compuestos fenólicos provenientes

de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Baltazar 2003), mientras que el tercer grupo incluye compuestos producidos por microorganismos, como son los compuestos llamados bacteriocinas.

1.3.1 Antimicrobianos derivados de plantas

Matamoros (1998) menciona que aproximadamente 1389 plantas son un recurso potencial de compuestos antimicrobianos. Estos compuestos incluyen muchas sustancias de bajo peso molecular como fenólicos, fitoalexinas, entre muchos otros. Los compuestos fenólicos son los más predominantes en muchos de los extractos y aceites esenciales provenientes de plantas.

La Tabla II muestra un listado de constituyentes en algunos extractos y aceites esenciales de plantas. Muchas hierbas y especias contienen aceites esenciales que son antimicrobianos, y cerca de 80 productos de origen vegetal que contienen altos niveles de estos tendrían uso potencial en alimentos por ejemplo clavo, ajo, cebolla, salvia, mostaza, vainilla y frutos cítricos, entre otros.

Entre los antimicrobianos naturales que en los últimos años han despertado el interés de los investigadores en la industria alimenticia se encuentran las especias, que son raíces, corteza, capullos, semillas o frutos de plantas aromáticas (Tabla I), las cuales son usadas para condimentar los alimentos (Carrillo, 1999).

Tabla II. Constituyentes de extractos y aceites esenciales de plantas.

Nombre común	Otros nombres	Plantas o especie
Aldehído	3-fenilpropenal	Canela
Cinámico		
Alil	Alil isotiocianato	Mostaza
Isotiocianato		
Anetol	p-propemilanniso, 1-metodix-4-propenilbenceno	Hinojo
Carvacrol	2-hidroxi-p.cimeno, isotimol p-alifenol	Tomillo, albahaca, estragón
p-cimeno		Tomillo
cineol	Isopropil-tolueno	Laurel, romero
Citral	Eucaliptol	Té de limón
Cominal	3,7-dimetil-2-6, octadienal	Comino
	Culminaldehido	
Eugenol	p-isopropil benzaldehido	Clavo
Limonero, linatol	4-alil-2-metoxifenol	Té de limón, albahaca
	3,7-dimetil-3-hidroxil,1,6-octadieno	

Adaptada de Zaika (1888), Beuchat y Goleen (1989), Nychas (1995) y Shelef(1983)

1.3.2 Modo de acción de los antimicrobianos naturales extraídos de plantas

Los aceites y extractos de plantas, principalmente de clavo, orégano, tomillo y algunos otros, presentan actividad inhibitoria contra ciertos microorganismos de importancia en alimentos (Beuchat y Golden 1989). Considerando el gran numero de diferentes grupos de compuestos químicos presentes en los aceites esenciales (Tabla II), es importante decir que su actividad antimicrobiana no se atribuye a un mecanismo específico; sin embargo, existen algunos sitios de acción en la célula en donde pueden ocurrir los siguientes efectos: daño a la membrana citoplasmática, degradación de la pared celular, daño a las proteínas, filtración del contenido celular, coagulación del citoplasma y disminución de la fuerza motriz (Friedman *et al.*, 2002).

Burt y Rainder (2003) señalaron que al exponer las células a concentraciones subletales de agentes antimicrobianos naturales (como carvacrol y timol), hay cambios en la concentración de los ácidos grasos de la membrana celular, presentándose un aumento de los ácidos grasos insaturados.

La estructura química de los componentes individuales de los aceites esenciales afecta su modo preciso de acción y su actividad antimicrobiana. La importancia de la presencia de los grupos hidroxilo en los compuestos fenólicos ha sido confirmada (Dorman y Deans, 2000). Hay estudios que demuestran los efectos antimicrobianos que ejercen los compuestos aromáticos sobre la membrana citoplasmática, alterando su estructura y por consiguiente su función. Por ejemplo, Farag *et al.* (1989) en estudios con *E. coli* observaron una disminución en el potencial de membrana al exponer las células microbianas a algunos compuestos aromáticos como eugenol y carvacrol. Suhr

y Nielsen (2003), reportaron al realizar estudios con timol, eugenol y triclocarbon (TCC), que los dos primeros agentes antimicrobianos presentaban efecto bactericida contra microorganismos Gram negativos y positivos, provocando daño en la membrana celular y salida de los componentes intracelulares, sin embargo, TCC no provocó efectos letales en las células.

Generalmente, el flujo de iones potasio es una señal temprana del daño a la membrana citoplasmática y es seguido por el flujo de los demás constituyentes citoplasmáticos (Ultee *et al.*, 2002). La perdida de la permeabilidad de la membrana es identificada como causa de la muerte celular y depende de la hidrofobicidad de los solutos que cruzan la membrana y de la composición de la misma. El coeficiente de partición de los aceites esenciales en las membranas celulares es un determinante crucial para su efectividad, por lo que se esperan variaciones cuantitativas en la actividad de los agentes antimicrobianos contra diferentes bacterias (Lambert *et al.*, 2001). Algunas investigaciones señalan que la perdida de la funcionalidad de la membrana es solo una parte de la explicación de la actividad antimicrobiana que presentan dichos agentes (Burt, 2004).

Los componentes de los aceites esenciales también parecen actuar sobre las proteínas de las células que se encuentran embebidas en la membrana citoplasmática. Las enzimas ATPasas que se encuentran localizadas en dicha membrana pueden ser alcanzadas por las moléculas lipídicas, viéndose afectada la regulación de energía y la síntesis de componentes estructurales (Friedman *et al.*, 2002).

Los componentes de los aceites esenciales, básicamente timol, carvacrol y eugenol, los cuales son compuestos

fenólicos, poseen fuertes propiedades antimicrobianas contra diversos microorganismos de interés en alimentos (Lambert *et al.*, 2001) y es razonable pensar que su mecanismo de acción es similar al de otros compuestos fenólicos, provocando desorden en la membrana citoplasmática, rompimiento de la fuerza motriz del protón, flujo de electrones y coagulación del contenido celular (Davidson y Branen, 1997). Además, a diferencia de muchos antibióticos, los constituyentes hidrofobicos de los aceites esenciales son capaces de entrar en el periplasma de las bacterias Gram negativas a través de las proteínas de la membrana externa (Lambert *et al.*, 2001).

Conner y Beuchat (1984) señalaron que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales en levaduras se debe al daño ocasionado a algunos sistemas enzimáticos involucrados con la producción de energía y síntesis de componentes estructurales. Algunos compuestos fenólicos cruzan la membrana citoplasmática e interaccionan con proteínas y enzimas de membrana, causando un flujo opuesto de protones afectando la actividad celular.

2. Aceite esencial de tomillo

El aceite esencial de tomillo (1.0-2.5%) está constituido principalmente por fenoles monoterpénicos, como timol, carvacrol, p-cimeno, γ -terpineno, limoneno, borneol y linalol. No obstante, se ha de tener en cuenta que la composición del aceite esencial es variable según la época y lugar de la cosecha, además de la bien conocida existencia de diferentes quimiotipos. Se conocen dos clases de aceite esencial de tomillo: aceite de tomillo rojo y aceite de tomillo blanco (Alzamora *et al.*, 2000).

En su composición química destacan el aceite esencial y los flavonoides. Otros componentes también destacables son los

ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico (ácidos cafeico y rosmarínico), triterpenos (ácidos ursólico y oleanólico), saponinas, taninos y un principio amargo (serpilina).

Numerosos estudios demostraron que el aceite esencial de tomillo es uno de los aceites esenciales más potente en relación con propiedades antimicrobianas (Manou *et al.*, 1998). El timol y carvacrol fueron algunos de los componentes más activos contra múltiples patógenos transmitidos por los alimentos.

La propiedad antimicrobiana del extracto de tomillo está asociada por su carácter lipofílico a la acumulación en membranas y los subsecuentes eventos en la membrana como la pérdida de energía. El mecanismo por el cual los microorganismos son inhibidos por compuestos fenólicos incluye la sensibilización de la bicapa fosfolípida de la membrana celular, causando un incremento en la permeabilidad y pérdida de constituyentes celulares vitales o daño de las enzimas bacterianas. También se presume que la inhibición bacteriana por el aceite de tomillo se debe a su hidrofobicidad y a los puentes de hidrógeno de sus constituyentes fenólicos a proteínas de membrana, cambiando la permeabilidad y características de la membrana. (Chiasson *et al.*, 2004).

Se presentan a continuación algunos reportes sobre la actividad antimicrobiana de los componentes principales del aceite esencial de tomillo, carvacrol, timol, cimeno y terpineno.

2.1. Carvacrol y timol

El timol y el carvacrol, son compuestos fenólicos que son similares estructuralmente diferiendo en la posición del grupo hidroxilo. Estos compuestos con estructura fenólica, poseen una mayor actividad antimicrobiana

que los que no la poseen y la presencia y localización del grupo hidroxilo es un factor importante en esta actividad.

Lambert *et al.*, (2001), observaron que el carvacrol y el timol actuaban de forma diferente frente a microorganismos Gram positivos y negativos, pero en otros estudios no se observó la importancia de la posición del grupo hidroxilo, y la capacidad antimicrobiana del timol y carvacrol fue similar.

El carvacrol y el timol aumentan la permeabilidad de la membrana celular desintegrando la membrana externa de las bacterias Gram negativas, liberando los lipolisacáridos (LPS) y aumentando la permeabilidad de la membrana citoplasmática a ATP. Las mediciones de ATP interno y externo revelaron que el ATP celular interno disminuía mientras que no había un aumento proporcional en el exterior celular, de acuerdo a esto se presume que la tasa de síntesis de ATP disminuyo o que la tasa de hidrólisis de ATP incrementó (Alzamora *et al.*, 2000). Burt (2004) observó que las toxinas diarreicas producidas por *Bacillus cereus* se vieron inhibidas por la presencia de carvacrol en el medio de cultivo y esto puede deberse a que la excreción de la toxina es un proceso activo, y de acuerdo a las dos presunciones anteriores no hay suficiente ATP o fuerza protón motriz (FPM) para exportarla fuera de la célula.

Alternativamente el crecimiento específico da a teorizar que la célula usa la energía (ATP) para mantener las funciones vitales para sostener su viabilidad, dejando a un lado la producción de toxinas (Conner y Beuchat, 1984).

El carvacrol interactúa con la membrana uniéndose a la bicapa de fosfolípidos, provocando la desestabilización de la misma,

aumentando su fluidez e incrementando la permeabilidad pasiva. También, se ha observado el paso de metabolitos celulares a través de la membrana celular. El potencial de membrana también disminuye, debilitando la FPM y el gradiente de pH a través de la membrana. Se concluye por tanto que el carvacrol crea canales a través de la membrana empujando las cadenas de ácidos grasos de los fosfolípidos, permitiendo que los iones abandonen el citoplasma (Burt, 2004).

Por otro lado, el timol se une a las proteínas de membrana de manera hidrofóbica y por puentes de hidrógeno, lo que cambia las características de la permeabilidad de la membrana. Estudios demostraron, que el timol tiene un efecto más inhibitorio en un pH de 5.5 que en uno de 6.5. Al estar en un pH ácido la molécula de timol se vuelve más indisoluble y por tanto más hidrofóbica, y por tanto se puede unir mejor a las áreas hidrofóbicas de las proteínas disolviéndose mejor en la fase líquida lo que puede apoyar la confirmación de la salida de iones intracelulares de K⁺ por el cambio de la permeabilidad de la membrana (Scheidegger y Payne, 2003).

2.2. Cimeno y γ -terpineno

El precursor biológico del carvacrol es el p-cimeno (1-metil-4-(1-metiletil)benceno) que es hidrofóbico y causa turgencia de la membrana citoplasmática en mayor grado que el carvacrol. Esta sustancia no es tan efectiva como antibacterial cuando es usada sola pero combinada con carvacrol, se ha observado sinergismo en *B. cereus*. Existe una mayor eficiencia de p-cimeno al ser incorporado en la bicapa lipídica de la bacteria ya que facilita el transporte del carvacrol a través de la membrana citoplasmática (Ultée *et al.*, 2002 en Burt, 2004). El γ -terpineno no antagoniza el crecimiento de *S. typhimurium* mientras el α -

terpineno inhibe de 11 a 25 bacterias (Dorman *et al.*, 2000).

Se ha reportado que compuestos con estructuras fenólicas tienen una alta actividad antimicrobiana seguido por aldehídos, cetonas, alcoholes y otros hidrocarbonos usando métodos de difusión, dilución y contacto gaseoso (Suhr *et al.*, 2000).

Conclusiones

De la revisión realizada se puede concluir que la cantidad de aceite esencial necesaria para ejercer la actividad de los antimicrobianos es la mayoría del tiempo mayor que la cantidad normalmente utilizada como saborizante y se asocia con efectos adversos sensoriales. Además, se recomienda aplicar los aceites esenciales o sus compuestos como parte de un sistema de barrera y de utilizarlo como un componente antimicrobiano, junto con otras técnicas de conservación, por ejemplo, en combinación con la temperatura reducida y la reducción del pH o el uso de una combinación sinérgica de aceites esenciales y sus compuestos, por ejemplo, carvacrol en combinación con p-cimeno (Ultee *et al.*, 2000), lo que permite disminuir sus concentraciones y reducir al mínimo los efectos adversos sensoriales. Es evidente que más estudios son necesarios en las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales y sus compuestos antes de que puedan ser utilizados como conservantes de alimentos.

Agradecimientos

A la Universidad de las Américas Puebla y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

(CONACyT, México) por las becas recibidas apoyando los estudios de maestría de A. Rosas Gallo.

Referencias

- Alzamora, S. M., Tapia, M. S., López-Malo, A. 2000. *Minimally Processed Fruits and Vegetables*. Aspen Publication, USA.
- Baltazar, F. E. 2003. "Mezclas de antimicrobianos naturales y sintéticos para inhibir el crecimiento bacteriano". Tesis de Maestría. Universidad de las Américas, Puebla, México
- Burt S. A. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94:223-253.
- Burt, S.A. y Reinders R. D. 2003. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* 0157:H7. *Letters in Applied Microbiology*. 36:162-167.
- Carrillo, I. M. L. 1999. "Efecto de la actividad de agua, pH y temperatura de incubación en la capacidad antimicótica de mezclas de benzoato de sodio-vainilla". Tesis de Maestría. Universidad de las Américas, Puebla, México.
- Chiasson, F, Borsa J, Ouattara B., Lacroix M. 2004. Radiosensitization of *E. coli* and *S. typhi* in ground beef. *Journal of Food Protection*. 67:1158-1162.
- Conner, D.E. y Beuchat, L.R. 1984. "Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts". *Journal of Food Science*. 49:429-434.
- Davidson, P. M. y Branen, A. L. 1997. *Antimicrobials in Foods*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Dorman, H.J.D. y Deans S.G. 2000. Antimicrobials agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88:308-316.

- Lambert, R. J., Skandamis P. N., Coote P. J, Nychas G. 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 91:453-462.
- Matamoros, L. B. A. 1998. "Actividad antimicrobiana de mezclas sorbato de potasio-vainilla" sobre mohos deteriorativos de frutas". Tesis de Maestría. Universidad de las Américas, Puebla, México.
- Moreno, P. M. M. 2002. "Inhibición de *Aspergillus flavus* y *Penicillium digitatum* utilizando agentes antimicrobianos naturales y/o sintéticos". Tesis de Licenciatura. Universidad de las Américas, Puebla, México.
- Suhr, K. I. y Nielsen P. V. 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology*. 94:665-674.
- Giese, J. 1994. Antimicrobials: assuring food safety. *Food Technology*. 48(6):102-110.
- Gould, G. W. y Russell, N. J. 1991. Major food-poisoning and food-spoilage micro-organisms. En: Food Preservatives. Ed. N. J. Russel and G. W. Gould. Blackie & Son Ltd. Glasgow.
- Shelef, L. A. 1983. Antimicrobial effects of spices. *Jounal Food Safety*. 6:29-44.
- Beuchat, L. R. y Golden, D. A. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. *Food Technology*. 43(1):134-142.
- Farag, R. S., Daw, Z. Y., Hewedi, F. M. y El-Baroty, G. S. A. 1989. Antimicrobial activity of some egyptian spice essential oils. *J. Food Protection*. 52:665-667.
- López-Malo A, Alzamora, S.A, Palou E. 2005. "Naturally Occurring Compounds – Plant Sources". *Antimicrobials in Foods*, P.M. Davidson, J.N. Sofos, A.L. Branen (Ed.) 3rd Edition. CRC, New York, p. 429-451.
- Manou, I., Bouillard, L., Devleeschouwer, M.J., Barel, A.O. 1998. Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. *Journal of Applied Microbiology*. 84, 368-376.
- Ultee, A., Slump, R.A., Steging, G., Smid, J., 2000. Antibacterial activity of carvacrol towards *Bacillus cereus* on rice. *Journal of Food Protection*. 63 (5), 620-624.
- Friedman, M., Henika, P.R., Mandrell, R.E. 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *Journal of Food Protection*. 65, 1545-1560.
- Scheidegger, K. A. y Payne G.A. 2003. Unlocking the secrets behind secondary metabolism: A review of *Aspergillus flavus* from pathogenicity to functional genomics. *Journal of Toxicology-Toxin Reviews*. 22(2-3): 423-459.