



Potencial antimicrobiano de mezclas que incluyen aceites esenciales o sus componentes en fase vapor

M. A. Olivares - Cruz* y A. López - Malo

*Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla.
Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés Cholula, Puebla. C.P.72810, México.*

Resumen

El estudio de los aceites esenciales en fase vapor surge debido a la demanda de los consumidores sobre disminuir el uso de aditivos sintéticos en los alimentos y por lo tanto, la industria de alimentos está tratando de cambiarlos por aditivos naturales y sin modificar su perfil sensorial. Se ha reportado que los aceites esenciales en fase vapor tienen potencial como agentes antimicrobianos, al igual que las mezclas de los componentes principales presentes en los aceites esenciales, pero sus estudios son escasos. El objetivo de este trabajo es revisar investigaciones recientes acerca del potencial del empleo como agentes antimicrobianos de mezclas que incluyen aceites esenciales y sus componentes principales en fase vapor, para dar un panorama del posible desarrollo de sinergias, antagonismos, o aditividad al utilizar mezclas relevantes para la industria alimentaria.

Palabras clave: aceites esenciales, fase vapor, antimicrobianos naturales, mezclas.

Abstract

The study of essential oils in vapor phase has gained importance because of the consumer's demand to reduce the use of synthetic additives in food. Thus, the food industry is trying to replace them by natural additives without modifying the food product sensory attributes. It has been reported that essential oils in vapor phase have the potential to act as antimicrobial agents, as well as the main components present in the essential oils; however, their study is scarce. The aim of this work is to review current research about of the potential use as antimicrobial agents of combinations that include essential oils and their major components in vapor phase, to present an overview of possible synergy, antagonism or additivity when using combinations relevant for the food industry.

Keywords: essential oil, vapor phase, natural antimicrobial, combinations.

Introducción

Uno de los principales objetivos de la industria de alimentos es la seguridad o inocuidad alimentaria. Por ello, esta industria

se encuentra en una constante búsqueda de nuevos y mejores agentes antimicrobianos, que cumplan con las demandas de los consumidores, los cuales exigen el uso de aditivos naturales que sustituyan a los aditivos sintéticos, con altos estándares de calidad adaptándose a la tendencia "verde" que se experimenta en la actualidad.

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

Debido a estas demandas, los aceites esenciales se han estudiado como agentes antimicrobianos por su amplio espectro de inhibición microbiana y su origen natural. El enfoque principal de estos estudios radica en la aplicación directa de estos aceites y, en menor escala, el empleo en fase vapor. Actualmente, existe poca información sobre el efecto antimicrobiano de emplear mezclas de aceites esenciales en fase vapor o sobre su interacción con otros componentes presentes en los alimentos.

En el estudio de las mezclas de aceites esenciales y en la combinación con otros aditivos en alimentos, es de gran importancia determinar si la mezcla o combinación resulta en situaciones sinérgicas, antagónicas o de aditividad, ya que estas situaciones ocurren entre los componentes que forman los aceites esenciales (Rocha, 2012). Es por ello que el objetivo de este trabajo es revisar investigaciones actuales acerca de los efectos antimicrobianos de mezclas de aceites esenciales, componentes principales en fase vapor, y mezclas de aceites esenciales con aditivos en alimentos que dan como resultado sinergia, antagonismo o aditividad.

Revisión bibliográfica

1. Agentes antimicrobianos

Un aditivo es aquella sustancia que se agrega intencionalmente al alimento durante las etapas de producción, envasado y conservación. Los aditivos pueden ser de origen natural o sintético (Badui, 2006). Dentro de los aditivos se encuentran los agentes antimicrobianos, que se definen como las sustancias que pueden inactivar microorganismos o controlar su crecimiento en los alimentos (Prescott *et al.*, 2002). Los antimicrobianos que son agregados a los alimentos tienen que ser GRAS (por sus siglas

en inglés *Generally Recognized as Safe*), como lo ha establecido la FDA (*Food and Drug Administration*) de los Estados Unidos y aunque otros lugares no se guíen por esta regulación, la lista de sustancias GRAS es aceptada en muchos países. Algunos ejemplos de antimicrobianos agregados a alimentos son los siguientes: acetaldehído, ácido acético, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido cítrico, quitosano, CO₂, diacetil, EDTA, H₂O₂, nitritos, ácido sóblico, sulfitos, entre muchos otros (Ray y Bhunia, 2008).

1.1. *Antimicrobianos naturales*

Los métodos convencionales de conservación para prolongar la vida de aquellos de alimentos, como lo son el calor, el empleo de atmósferas modificadas, empaques al vacío o refrigeración, no eliminan el total de microorganismos inicialmente presentes en el alimento, o no garantizan (dependiendo de la intensidad del método o factor de conservación aplicado) la extensión de la fase lag para cumplir con la vida útil del producto. Por ello, los procesos se combinan con la aplicación de agentes antimicrobianos (la mayoría de ellos sintetizados químicamente) para el control de microorganismos. En algunos casos y si los antimicrobianos químicos exceden la normativa vigente, pueden tener un potencial toxicológico (Sagar *et al.*, 2012). Debido a ello, la industria de alimentos busca nuevas fuentes de agentes antimicrobianos, que cumplan además con el requisito de ser naturales.

En años recientes se ha observado la tendencia para usar agentes antimicrobianos naturales, para tener una oferta de alimentos frescos, naturales, mínimamente procesados y garantizar que éstos sean inocuos (Sagar *et al.*, 2012). Además, existen otras razones importantes para buscar alternativas. Una razón es que la sociedad experimenta una tendencia “verde” de consumo, con una demanda de menos aditivos sintéticos

añadidos a los alimentos, pero mayor seguridad y calidad (Nedorostova *et al.*, 2009).

La acción antimicrobiana puede ser lograda mediante algunos compuestos químicos naturalmente presentes en los alimentos, y en cantidades suficientes, como la lisozima presente en el huevo y algunos ácidos orgánicos en frutas. En algunos casos se pueden formar durante el procesamiento, como el ácido láctico durante la fermentación de la leche para la producción del yogur (Ray y Bhunia, 2008). Existe una amplia variedad de alimentos que contiene antimicrobianos naturales o biocomponentes que pueden actuar como antimicrobianos, que abarcan desde la sal común, pasando por alimentos como la zanahoria, rábanos picantes, ajo, cebolla, entre muchos otros. De la misma forma, se encuentran especias y hierbas con acción contra bacterias y mohos como: tomillo, clavo, orégano, romero, o canela, entre otras (Marcen, 2000). Los aceites esenciales de plantas y frutas también tienen una acción antimicrobiana, los cuales también pueden ser agregados como antimicrobianos naturales a los alimentos.

2. Aceites esenciales y su aplicación

Los aceites esenciales son componentes de plantas; están compuestos de una mezcla de terpenos, terpenoides, aldehídos y alcoholes, de los cuales un porcentaje alto es volátil (Laird y Phillips, 2011); estos compuestos son los responsables de su actividad antimicrobiana. Los estudios sobre aceites esenciales cobran más auge, ya que un porcentaje considerable de ellos, fueron nombrados como sustancias GRAS en el año 2005 por la FDA (Espina *et al.*, 2011).

2.1. Fuentes de aceites esenciales

Existen diversos tipos de aceites esenciales que han sido reportados con efectos antimicrobianos.

Los aceites esenciales pueden variar en algunas de sus propiedades físicas (por ejemplo densidad, viscosidad), rendimiento, y sobre todo, en la composición de compuestos volátiles con actividad antimicrobiana. El tipo de material vegetal del cual se extraiga el aceite esencial afectará las características del mismo, pero también la diversidad de lugares, formas y condiciones de cultivo de la hierba, fruta o especia afectará la composición del aceite esencial y por lo tanto su actividad antimicrobiana (López-Malo *et al.*, 2005). Algunos ejemplos de fuentes de aceites esenciales son:

- 1) Frutos cítricos. Espina *et al.* (2011) extrajeron aceites de naranja (*Citrus sinensis*), limón (*Citrus lemon*) y mandarina (*Citrus reticulata*), los cuales mostraron actividad antimicrobiana contra microorganismos patógenos (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella enterica*).
- 2) Hierbas. Se ha reportado el efecto antimicrobiano de sus aceites esenciales en sobre al menos una bacteria, como: *Allium sativum* (ajo), *Armoracia rusticana* (rábano), *Caryopteris clandestina* (espirea azul), *Hyssopus officinalis* (hisopo), *Mentha villosa* (menta), *Nepeta faassenii* (hierba gatera), *Origanum majorana* (mejorana), *Origanum vulgare* (orégano), *Satureja montana* (ajedrea), *Thymus pulegioides* (tomillo sanjuanero), y *Thymus vulgaris* (tomillo) (Nedorostova *et al.*, 2009).
- 3) Especias. Algunas especias han sido utilizadas para el control microbiano, como la canela (*Cinnamomum zeylaicum* Blume) y el orégano Mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer). El aceite esencial de canela ha demostrado en pruebas *in vivo* que controla el desarrollo de hongos endógenos del trigo (*Triticum* spp.), además de que puede inhibir la producción de aflatoxinas (Camarillo, 2006). El orégano es la especia más

comúnmente estudiada con actividad antimicrobiana (Portillo-Ruiz *et al.*, 2012).

Con lo anterior, podemos notar que existe una amplia variedad de fuentes de aceites esenciales, estos aceites deben ser estudiados para saber su capacidad antimicrobiana e investigar las posibles interacciones que pueden presentarse al combinarlos o al mezclarlos con otros aditivos que se añaden a los alimentos.

2.2. *Métodos de obtención*

Los aceites esenciales son obtenidos por diferentes métodos como prensado, extracción con solventes y maceración. Existen otros métodos como el de extracción por medio de dióxido de carbono líquido en condiciones supercríticas, los cuales dan un mayor rendimiento y mejores atributos, pero el costo es mayor. El método más usado es destilación por arrastre con vapor y recientemente se ha implementado extracción asistida por microondas. Otro método de obtención de los aceites esenciales es por medio de solventes, este método puede influir en la acción antimicrobiana, ya que los aceites esenciales extraídos con hexano han demostrado mayor eficacia antimicrobiana que los destilados por arrastre con vapor (Burt, 2004). Sin embargo, existe un costo extra asociado a la separación del solvente por lo que es una técnica poco utilizada para la obtención de aceites esenciales.

2.3. *Aceites esenciales en adición directa y en fase vapor*

Los aceites esenciales son aplicados principalmente de dos maneras: uno en fase directa (líquida) y otra en fase vapor. Cabe mencionar que la aplicación se ha probado en sistemas modelos que tratan de simular las condiciones en alimentos, y pocas investigaciones reportan la aplicación de los aceites esenciales en alimentos reales.

Para la aplicación en fase directa, el aceite esencial se coloca en el sistema modelo, generalmente a base de agar (el cual puede variar de acuerdo al estudio). Se ajusta a las concentraciones que se desean evaluar, y en cada una de las concentraciones se inocula la cepa que se quiere estudiar.

Un ejemplo de aplicación en fase directa es el reportado en el estudio realizado por Portillo-Ruiz *et al.* (2012), para la evaluación de la actividad antimicrobiana del orégano mexicano (*Lippia berlandieri* Schauer). Este trabajo fue realizado en un medio de laboratorio (agar), al cual después de la esterilización se le agrega el aceite esencial del orégano mexicano diluido en alcohol, en diferentes concentraciones 50, 100, 150 y 200 mg/kg. Posteriormente, los medios fueron inoculados con cepas de algunos mohos (*Aspergillus*, *Penicillium*, y *Rhizopus* spp.) en el centro de las cajas. Se incubaron a temperatura ambiente, teniendo un monitoreo cada 48 h por 40 días. Las concentraciones que lograron la inhibición fueron 150 mg/kg para *Rhizopus* spp., 150 mg/kg para *Aspergillus* spp. y 200 mg/kg para *Penicillium* spp.

Por otra parte, la aplicación en fase vapor, se lleva a cabo generando una atmósfera al colocar el aceite esencial en un sistema herméticamente cerrado (Fig. 1) en donde se colocan cajas Petri inoculadas con las cepas microbianas a evaluar y en el fondo el aceite esencial en diferentes concentraciones permitiendo su volatilización (mL/L de aire, mmol/L de aire o μ L/L de aire) sin tener contacto directo con los cultivos (Velázquez-Nuñez *et al.*, 2013).

Esta técnica se describe en el estudio hecho por Tunc *et al.* (2006), donde se utilizó un sistema (frasco) herméticamente cerrado que contiene cajas Petri de 8.5 cm de diámetro descubiertas en el centro del sistema. Las cajas contenían 10 mL del medio de ensayo (agar) inoculadas en el centro con 10^4 esporas del

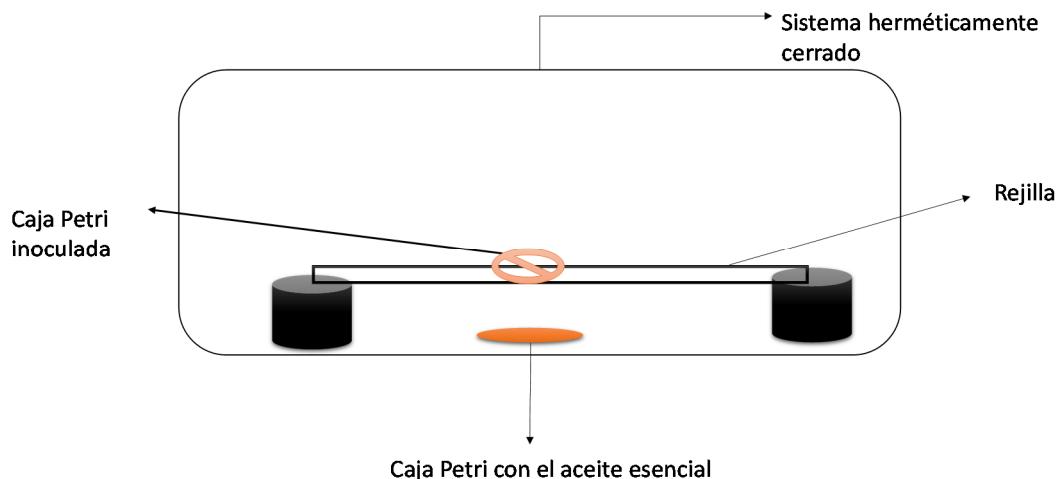


Fig. 1. Diagrama esquemático de un sistema herméticamente cerrado para la aplicación de aceites esenciales en fase vapor.

microorganismo a evaluar (*Penicillium notatum*), los compuestos carvacrol, cinamaldehído y alil-isotiocianato (AITC), constituyentes mayoritarios de los aceites esenciales de orégano, tomillo y de plantas de la familia *Cruciferae*, respectivamente, se introdujeron en un papel filtro sin tener contacto directo con el inóculo. La respuesta de crecimiento del moho fue evaluada diariamente, encontrando que la concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 32.5 $\mu\text{mol/L}$ de aire para el carvacrol, de 3.9 $\mu\text{mol/L}$ de aire para el cinamaldehído y de 3.8 $\mu\text{mol/L}$ de AITC.

3. Mezclas que incluyen aceites esenciales o sus componentes en fase vapor.

3.1. Interacciones de las mezclas

Los conceptos de sinergia, antagonismo y aditividad están muy ligados a los posibles efectos antimicrobianos del empleo de mezclas de agentes antimicrobianos.

Goñi *et al.* (2009) mencionan que la sinergia se presenta cuando el efecto de las sustancias combinadas es mayor que la suma

de los efectos individuales; el antagonismo se observa cuando el efecto de la mezcla es menor que cuando se aplican individualmente y un efecto aditivo se observa cuando el efecto combinado es igual a la suma de los efectos individuales.

Por lo cual, al combinar los aceites esenciales entre ellos mismos o con otros aditivos, se pueden encontrar varias formas de interacción, las cuales tienen importancia en la industria de alimentos.

3.2 Aplicaciones de mezclas

Los aceites esenciales son muy volátiles, por lo cual son ideales para ser evaluados en fase vapor. Varias investigaciones sugieren que algunos compuestos presentes en los aceites esenciales, como lo son los terpenos, tienen una mayor actividad antifúngica en fase vapor (Vilela *et al.*, 2009). La actividad inherente del aceite esencial se relaciona con su composición química y la interacción entre sus componentes. Algunos estudios mencionan que los aceites esenciales en su conjunto tienen una actividad antimicrobiana mayor que las mezclas de sus componentes mayoritarios,

demostrando que los componentes que conforman al aceite esencial son los responsables de la actividad antimicrobiana y por lo tanto pueden presentar efectos sinérgicos (Rocha, 2012).

La información reportada en la literatura sobre las posibles mezclas que se pueden dar entre aceites esenciales es muy diversa, pero también existen reportes en donde la combinación se evalúa entre aceites esenciales y compuestos químicos, o con películas comestibles, entre otros posibles aditivos.

Estudios llevados a cabo por Goñi *et al.* (2009) mencionan que las mezclas de vapores generados por la combinación de aceites esenciales de canela y clavo tienen acción antimicrobiana sobre bacterias (*Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella choleraesuis*). Las Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) para las mezclas de aceites de canela y clavo (1:1) obtenidas se muestran en la Tabla I. Estos autores encontraron un efecto antagonista entre el aceite esencial de canela y clavo para *E. coli* pero encontraron efectos aditivos para las demás bacterias, *Y.*

enterocolitica, *S. choleraesuis*, *B. cereus*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis* y *S. aureus*; mientras que usando las concentraciones de la máxima inhibición (Tabla 1), encontraron tres situaciones de sinergia contra *B. cereus*, *L. monocytogenes* y *Y. enterocolitica* y efectos aditivos para las demás bacterias, *E. coli*, *S. choleraesuis*, *E. faecalis*, y *S. aureus*.

López *et al.* (2007) evaluaron diferentes aceites esenciales y mezclas con sus componentes químicos más relevantes, para probar posibles interacciones entre los componentes. El aceite esencial de canela fue combinado con cinamaldehído y el aceite esencial de tomillo con timol. Los resultados de los efectos de sinergia, antagonismo y aditividad sobre los microorganismos evaluados se muestran en la Tabla II.

Por otro lado, también existen reportes sobre las combinaciones de aceites esenciales o sus componentes mayoritarios con otros aditivos como el dióxido de azufre y los vapores de etanol, que han sido usados para prolongar la vida de anaquel de productos de panadería; sin embargo, el uso de estos aditivos conlleva efectos adversos (daños a los

Tabla I. Concentraciones mínimas inhibitorias y de máxima inhibición para varios microorganismos.

	Concentraciones mínimas inhibitorias (mg/L)	Concentración de la máxima inhibición (mg/L)
<i>E. coli</i>	90	90
<i>Y. enterocolitica</i>	18	90
<i>S. choleraesuis</i>	135	180
<i>B. cereus</i>	36	135
<i>S. aureus</i>	54	135
<i>L. monocytogenes</i>	90	180
<i>E. faecalis</i>	90	135

Adaptado de Goñi *et al.* (2009). Las concentraciones son de aceite esencial de clavo y canela (1:1)

Tabla II. Sinergia, antagonismo y aditividad de mezclas de aceites esenciales y compuestos fénolicos contra diversos microorganismos.

Compuestos	Sinergia	Antagonismo	Aditividad
canela + cinamaldehido	<i>A. flavus</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>L. monocytogenes</i> , <i>C. albicans</i>
tomillo+ timol	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>A. flavus</i>		<i>C. albicans</i>

Adaptado de Coutinho *et al.* (2011)

alimentos, sabores desagradables y alergias). Ejemplo de ello es el trabajo de Tunc *et al.* (2006) donde utilizaron mezclas de diversas concentraciones de dióxido de azufre y etanol con componentes de aceites esenciales en fase vapor contra *Penicillium notatum*, encontrando seis situaciones sinérgicas: etanol/carvacrol, dióxido de azufre/carvacrol, dióxido de azufre/(ITC, dióxido de azufre/ cinamaldehido, AITC/cinamaldehido, y cinamaldehido/ carvacrol. La mezcla etanol (0.86 mmol/L) y carvacrol (10 µmol/L) supone una acción sinérgica contra *P. notatum*, con potencial para ser usada en alimentos; el etanol (3.4 mmol/L) se combinó con cinamaldehido (3.1 µmol/L) y solo se observó un aumento en el tiempo para observar el crecimiento del moho (fungistático), la mezcla SO₂ (0.16 mmol/L) y carvacrol (1.6 µmol/L) tuvo una acción sinérgica.

Estas acciones sinérgicas tienen un impacto importante al reducir las concentraciones de los aditivos químicos y mejorar los atributos sensoriales del alimento usando antimicrobianos naturales.

Por otra parte, la adición de antimicrobianos naturales a empaques de alimentos ha tomado una gran importancia a nivel mundial. Kurek *et al.* (2013) probaron diferentes composiciones de películas comestibles a base de quitosano, con

diferentes concentraciones de carvacrol (su uso como antimicrobiano es reconocido, reportando también actividad en fase vapor) evaluando a los microorganismos: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* y *Salmonella enteritidis*, (los inóculos no tuvieron contacto directo con la película de quitosano). Se obtuvieron resultados favorables para las películas formuladas con quitosano y carvacrol en las siguientes concentraciones: 4.62 x 10⁻⁸ g/mL y 6.41 x 10⁻⁸ g/mL de carvacrol, mostrando un fuerte efecto antimicrobiano contra casi todos los microorganismos probados, pero no contra *S. enteritidis*.

De manera similar, se probó la eficacia de la fase vapor del aceite esencial de canela combinada con películas plásticas de polietileno y polietilentereftalato, las cuales tampoco tuvieron contacto directo con el inóculo. La película activa, empezó a tener actividad cuando se añadieron 2% y 4% de aceite esencial de canela (0.071 g/m² y 0.142 g/m²), estas concentraciones produjeron inhibición total de *Aspergillus flavus* (Manso *et al.*, 2013).

Conclusiones

Las combinaciones entre los aceites esenciales, sus componentes y aditivos en

alimentos, son muy importantes y de gran utilidad, ya que ayudan a reducir la cantidad de aditivos sintéticos necesarios para eliminar o inhibir microorganismos patógenos o causantes del deterioro de alimentos, y así cumplir con las expectativas del consumidor que demanda alimentos mínimamente procesados, libres de aditivos sintéticos y que continúe la tendencia “verde” que experimenta la sociedad. Estas combinaciones de aceites esenciales en fase vapor reportadas hasta el momento han mostrado actividad antimicrobiana, la efectividad de estas combinaciones se dan mayoritariamente por los componentes que constituyen a los aceites (timol, cinamaldehído, carvacrol, etc.)

Aunque existe casos reportados de sinergia, aditividad y antagonismo, son necesarios más estudios en donde la aplicación se evalúe en alimentos y no solo en sistemas modelo, por lo cual la línea de investigación se encuentra abierta para encontrar más interacciones entre diferentes tipos de aceites esenciales y combinaciones con aditivos. Además, las mezclas que han sido reportadas como sinérgicas en sistemas modelo deben aplicarse en alimentos para posteriormente evaluar los efectos sobre la calidad sensorial y con ello la aceptación del consumidor.

Agradecimientos

El autor M. A. Olivares-Cruz agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el apoyo y financiamiento de sus estudios de posgrado.

Referencias

Badui S. D. 2006. *Química de alimentos*. Cuarta edición. Pearson educación. México. 716p.

- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*. 94:223–253.
- Camarillo, E. 2006. Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y Orégano (*Origanum vulgare* L.) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 1(24):8-12.
- Coutinho, H.D.M., Rodrigues, F.F.G., Nascimento, E.M.M., Costa, J.G.M., Falcão-Silva y Siqueira-Junior, J.P. 2011. Synergism of gentamicin and norfloxacin with the volatile compounds of *Lippia microphylla* Cham (Verbenaceae). *Journal essential oil Research* 23:24-28.
- Espina, L., Somolinos, M., Lorán, S., Conchello, P., García, D. y Pagán, R. 2011. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*. 22:896– 902.
- Goñi, P., López, P., Sánchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R. y Nerín, C. 2009. Antimicrobial activity in the vapor phase of a combination of cinnamon and clove essential oils. *Food Chemistry*. 116:982– 989.
- Kurek, M., Moundanga, S., Favier, C., Gali, K. y Debeaufort, F. 2013. Antimicrobial efficiency of carvacrol vapour related to mass partition coefficient when incorporated in chitosan based films aimed for active packaging. *Food Control*. 32:168-175.
- Laird, K., y Phillips, C. 2011. Vapor phase: a potential future use for essential oils as antimicrobials?. *Letters in Applied Microbiology*. 54:169–174.
- López, P., Sánchez, C., Batlle, R. y Nerín, C. 2007. Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *Jounal of Agriculture and Food Chemistry*. 55:4348-4356.
- López-Malo, A. Alzamora, S.M. y Palou, E. 2005. Naturally Occurring Compounds – Plant Sources. En: P.M. Davidson, J.N. Sofos y A.L. Branen (Eds.). *Antimicrobials in Foods*. Tercera edición. CRC Press, New York. pp. 429 - 451.
- Manso, S., Cacho-Nerín, F., Becerril, R., y Nerín, C. 2013. Combined analytical and microbiological tools to study the effect on *Aspergillus flavus* of cinnamon essential oil contained in food packaging. *Food Control*. 30:370-378.

- Marcen, J.J. 2000. Antimicrobianos naturales. *Medicina Naturista*. 2:104-108.
- Nedorostova, L., Kloucek, P., Kokoska, L., Stolcova, M. y Pulkabek, J. 2009. Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Control*. 20:157–160.
- Portillo-Ruiz, M., Sánchez, R., Ramos, S., Muñoz, J. y Moorillón, G. 2012. Antifungal effect of mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil on a wheat flour-based medium. *Journal of Food Science*. 77(8):441-445.
- Prescott, L. Harley, J. y Klein, D. 2002. *Microbiology*. Quinta edición. Mc Graw Hill, EE.UU. 1135 p.
- Ray, B. y Bhunia, A. 2008. *Fundamental Food Microbiology*. Cuarta edición. CRC Press, E.E.U.U. 492 p.
- Rocha, P. 2012. Synergistic antibacterial activity of the essential oil of Aguribay (*Schinus molle* L.). *Molecules*. 17:12023-12036.
- Sagar, K., Akshatha, R. y Prasad, S. 2012. Antimicrobial efficacy of some natural cosmeceuticals, neutraceuticals and medicinal plant extract and ultrastructural alterations in foodborne pathogens. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4, suppl. 1:113-120.
- Tunc, S., Chollet, E., Chalier, P., Preziosi-Belloy, L. y Gontard, B. N. 2006. Combined effect of volatile antimicrobial agents on the growth of *Penicillium notatum*. *International Journal of Food Microbiology*. 113: 263–270.
- Velázquez-Nuñez, M.J., Avila-Sosa, R., Palou, E. y Lopez-Malo, A. 2013. Antifungal activity of orange (*Citrus sinensis* var. Valencia) peel essential oil applied by direct addition or vapor contact. *Food Control*. 31:1-4
- Vilela, G. R., de Almeida, G. S., D'arce, A.B.R., Moraes, M.H.D., Brito, J.O., da Silva, M.F.G. F., Silva S.C., Piedade, S.M. de S., Calori-Domingues, M.A. y da Gloria, E.M. 2009. Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Journal of Stored Products Research*. 45:108–111.