



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE ÁLAMO TEMAPACHE

TITULACIÓN

TESIS PROFESIONAL

“Evaluación del efecto antifúngico del aceite esencial de
Cinnamomum zeylanicum”

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
Ingeniero en Industrias Alimentarias

PRESENTA

Edgar Gael Torres Hernández

DIRECTOR DE TESIS

Nancy Deyanira Hernández Castellanos

CO- DIRECTOR DE TESIS

Miguel Alberto Pérez Vargas

DEDICATORIA

A mis padres, quienes han sido mis pilares inquebrantables, les agradezco por su amor y apoyo incondicional. Mamá, tu persistencia y aliento han encendido en mí el deseo de perseguir mis sueños académicos, mientras que papá, me ha mostrado el valor de no rendirse y pese al miedo mostrar valor en medio de las adversidades.

A mis queridos abuelos, Mamá Juana y abuelo Lupe, les agradezco por sus sacrificios y enseñanzas. Mamá Juana, tu amor desinteresado ha sido un ejemplo de cariño familiar, y abuelo Lupe, tu legado de lucha y superación me ha inspirado a continuar sin importar las dificultades que nos depara el camino.

A mi abuela Lucía, agradezco por sus lecciones sobre la paciencia y la perseverancia. Su sabiduría y fortaleza han sido fundamentales en mi camino hacia el éxito. A toda mi amada familia, les dedico este logro, pues su amor, enseñanzas y apoyo constante han sido el motor que me ha impulsado a alcanzar mis metas. Sin ustedes, nada de esto sería posible. Por siempre estaré agradecido.

A mis hermanos, en medio de nuestras diferencias, han sido mi apoyo incondicional y mi fuente constante de alegría. Gracias por estar siempre ahí, por cuidarnos mutuamente y por enfrentar juntos lo que la vida nos depara. A pesar de los problemas, su fortaleza y amor han sido un bálsamo en los momentos difíciles. Su presencia ha coloreado mi vida con risas, aventuras y momentos inolvidables. Los adoro con todo mi corazón y les agradezco por hacer mi vida más brillante y significativa.

A los Ingenieros Nancy y Miguel,

Mi más sincero agradecimiento por su dedicación y apoyo constante en mi trayecto académico. Valoré profundamente sus diversos puntos de vista y conversaciones inspiradoras, así como su disposición inquebrantable para brindarme ayuda y claridad en el cumplimiento de mi proyecto. Las pláticas de aliento y confianza en mis habilidades fueron un impulso invaluable para superar cualquier obstáculo.

Con amor y gratitud,

Edgar Gael Torres Hernández.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por brindarme la oportunidad de compartir maravillosos momentos con mi familia, por su apoyo diario sin condiciones o limitaciones. Le agradezco infinitamente a mis padres que siempre me han brindado sus consejos y guiarme en el camino para cumplir mis sueños, objetivos, metas escolares y de vida. Gracias por su amor, su bondad por los sacrificios que enfrentamos, los fracasos, el esfuerzo, por confiar en mí y los ánimos que me dieron para lograr terminar mi carrera y alentarme ante los obstáculos que se me presentaron para lograr el éxito en mi superación como profesional, por brindarme lo económico y nunca rendirme.

Agradezco mucho a mis asesores su tiempo, sinceridad y atención sin molestia alguna, gracias sin ello, no podría haber llegado a lograr esta meta. Gracias por su orientación y todos tus consejos, siempre serán recordados en mi futuro profesional.

RESUMEN

Se realizó la evaluación del efecto antifúngico del AE de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) contra *Botrytis cinerea*, un hongo presente en uvas contaminadas. El AE de *C. zeylanicum*, se obtuvo mediante una extracción por arrastre de vapor, obteniendo una eficacia de 0.13% a partir de 4 kg de materia prima. La evaluación del porcentaje de inhibición de *Botrytis cinerea*, con diferentes concentraciones (0.25,0.5,0.75 ml) de AE de *C. zeylanicum*, se realizó por dos métodos: vertido en placa y fase vapor. En el vertido en placa, el tratamiento 1 mostró la menor inhibición (44%), mientras que en fase vapor, el tratamiento 1 mostró un porcentaje de inhibición mayor (88.33%). De esta forma la concentración mínima inhibitoria del método fase vapor es del 0.75 ml de AE de *C. zeylanicum*, por otro lado, el método vertido en placa es de 0.5 ml de AE de *C. zeylanicum*. Esto sugiere que el método de fase vapor es más efectivo para inhibir *Botrytis cinerea*, que el vertido en placa.

Palabras clave: Aceite esencial, canela, efecto antifúngico, vertido en placa, fase vapor.

ABSTRACT

The evaluation of the antifungal effect of cinnamon EO (*Cinnamomum zeylanicum*) against *Botrytis cinerea*, a fungus present in contaminated grapes, was carried out. The EO of *C. zeylanicum* was obtained through steam extraction, obtaining an efficiency of 0.13% from 4 kg of raw material. The evaluation of the percentage of inhibition of *Botrytis cinerea*, with different concentrations (0.25,0.5,0.75 ml) of *C. zeylanicum* EO, was carried out by two methods: pouring onto a plate and vapor phase. In the plate pouring, treatment 1 showed the lowest inhibition (44%), while in the vapor phase, treatment 1 showed a higher inhibition percentage (88.33%). In this way, the minimum inhibitory concentration of the vapor phase method is 0.75 ml of AE of *C. zeylanicum*, on the other hand, the pour-plate method is 0.5 ml of AE of *C. zeylanicum*. This suggests that the vapor phase method is more effective in inhibiting *Botrytis cinerea* than the pour plate method.

Keywords: Essential oil, cinnamon, antifungal effect, pouring on plate, vapor phase.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
ÍNDICE GENERAL	v
CAPÍTULO I.- INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Antecedentes	2
1.2 Planteamiento del problema.....	4
1.3 Justificación.....	5
1.4 Hipótesis.....	6
1.5 Objetivos	6
1.5.1 General.....	6
1.5.2 Específicos.....	6
CAPÍTULO II.- MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 Aceites Esenciales	7
2.1.1 Propiedades de los aceites esenciales	7
2.1.2 Propiedades físicas de los aceites esenciales	8
2.2 Métodos de extracción de los Aceites Esenciales.	8
2.2.1 Arrastre de vapor	9
2.3 Aceite esencial de <i>C. zeylanicum</i>	11
2.3.1 Principios Activos.....	11
2.4 Métodos de determinación de porcentaje de inhibición.....	11
2.4.1 Método de difusión en agar solido	11
2.4.2 Método de fase vapor	12
CAPÍTULO III.- ESTADO DEL ARTE	14
CAPÍTULO IV.- METODOLOGÍA.....	16
4.1. Obtención y acondicionamiento de la materia prima.....	16
4.2 Obtención del material biológico	16

4.3 Extracción del AE de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	17
4.4 Determinación del porcentaje de inhibición.....	17
4.4.1 Determinación del porcentaje de inhibición por el método de vertido en placa	18
4.4.2 Determinación del porcentaje de inhibición por el método de fase vapor.	18
4.5 Análisis estadísticos	19
CAPÍTULO V.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	20
5.1 Identificación de <i>B. cinerea</i>	20
5.2 Rendimiento del aceite esencial de <i>C. zeylanicum</i>	20
5.3.1 Porcentaje de inhibición por el método de vertido en placa con diferentes concentraciones de A.E.C.....	21
5.3.1 Porcentaje de inhibición por el método de fase a vapor con diferentes concentraciones de A.E.C.....	22
CONCLUSIONES	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Equipo de arrastre de vapor. Elaboración propia.....	10
Figura 2: Materia prima.....	16
Figura 3: Acondicionamiento de materia prima.....	16
Figura 4: Uva infectada del hongo <i>Botrytis cinerea</i>	16
Figura 5: Introducir la materia prima en la columna.....	17
Figura 6: AE de <i>C. zeylanicum</i>	17
Figura 7: Diferentes concentraciones de AE: 0.25, 0.5 y 0.75 ml de A.E.C/Agua.	17
Figura 8: Método vertido en placa.	18
Figura 9: Crecimiento de Micelio.	18
Figura 10: Discos de papel filtro Whatman.	19
Figura 11: Método fase vapor.	19
Figura 12: Crecimiento de Micelio.	19
Figura 13: <i>B. cinerea</i> aislado de muestras de uvas infectadas.	20

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1: Tipos de métodos de obtención de AE. Elaboración propia.....	8
---	---

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1: Acción fungicida del aceite esencial de <i>C. zeylanicum</i> con el uso de diferentes concentraciones de A.E.C.	21
Gráfica 2: Acción antifúngica del AE de <i>C. zeylanicum</i> con el uso de diferentes concentraciones de A.E.C.	22

CAPÍTULO I.- INTRODUCCIÓN

La presencia de hongos en productos alimenticios constituye un desafío constante para la industria de la conservación de alimentos, representando una amenaza significativa para la seguridad alimentaria y la calidad de los productos (Holmes G.,1999; Fogliata, G., 2001). La persistente resistencia de algunos hongos a los métodos tradicionales de conservación ha impulsado la búsqueda de alternativas más efectivas y sostenibles. Los AE, son valorados por sus características antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas, estos representan un potencial considerable para mejorar la conservación de alimentos. La determinación de la concentración mínima inhibitoria se determina mediante los diferentes métodos como el vertido en placa o la exposición a la fase vapor, siendo un componente crucial para identificar la cantidad óptima de aceite esencial necesaria para inhibir el desarrollo fúngico en los alimentos (Viuda-Martos et al. 2008; Marcia, 2012).

En este contexto, el AE de *C. zeylanicum* emerge como una solución prometedora, aunque aún se encuentra en una fase temprana de investigación y se requiere una comprensión más clara de su eficacia y la concentración óptima para inhibir el crecimiento fúngico en alimentos (Bai y otros, 2021). Este proyecto tuvo como objetivo principal abordar la problemática mencionada, centrándose en la extracción del AE de *C. zeylanicum* y evaluando su capacidad para inhibir el crecimiento de hongos en productos alimenticios. Con el fin de ejecutar esta labor, se empleó la técnica de destilación por arrastre de vapor, una metodología conocida por su eficiencia y por ser respetuosa con el medio ambiente al ser libre de solventes (Requejo, 2020). Además, se evaluó la capacidad de inhibición del AE de *C. zeylanicum* sobre *Botrytis cinerea* por el método de vertido en placa y fase vapor, también se determinó si el hongo desarrolla resistencia al AE.

1.1 Antecedentes

La *C. zeylanicum*, originaria de Sri Lanka, es una especie antigua que se conoció y utilizó incluso antes de la era cristiana, siendo mencionada en la Biblia como Quesiah. Los chinos la emplearon, los antiguos egipcios la utilizaron para combatir epidemias y en procesos de embalsamamiento de momias. En la antigua China, aproximadamente en el año 2500 a.C., se empleaba la especie *C. zeylanicum*. Los árabes aprovechaban sus propiedades antibacterianas para aromatizar carnes y prevenir la putrefacción (Argueta y Vásquez, 2005).

El género *Cinnamomum* comprende alrededor de 250 especies distribuidas en el sureste de Asia, China y Australia. Las variedades más utilizadas a nivel mundial son *C. zeylanicum*, *C. cassia* y *C. camphora*, con contenidos variables de cinamaldehído y eugenol dependiendo del origen geográfico y procesamiento (Liberal, 2014).

Se han realizado investigaciones sobre el efecto antimicrobiano del AE de *C. zeylanicum* sobre especies como *Salmonella choleraesuis* y *Salmonella typhimurium* donde se ha concluido que la concentración mínima inhibitoria varía desde el 50 al 90 % de concentración del AE, dependiendo del medio de cultivo utilizado. En cuanto al efecto antifúngico, ha demostrado eficiencia sobre especies como *Aspergillus flavus*, en dosis de 100 a 500 ppm (Liberal, 2014; Montero-Recalde et al., 2017b).

El método de vertido en placa, ofrece una serie de ventajas significativas en la evaluación de la susceptibilidad de las bacterias a agentes antimicrobianos. Esta técnica proporcionó una evaluación efectiva de la actividad antimicrobiana, lo que resulta crucial en la determinación de la eficacia de estos agentes en entornos clínicos. Además, mediante modificaciones como la adición de AE, este método se puede adaptar para inhibir el desarrollo de hongos y otros microorganismos, ampliando su utilidad en la evaluación de la actividad antifúngica (Martínez, 2007; Viuda-Martos et al. 2008).

Por otro lado, el método de fase vapor ofrece una alternativa eficaz para evaluar la actividad antimicrobiana de compuestos volátiles, como los AE, contra bacterias y hongos. Esta técnica implica, la generación controlada de una atmósfera saturada con los compuestos volátiles, lo que permite su interacción con los microorganismos presentes en un entorno específico.

Además, el método de fase vapor se destaca por su eficacia en la protección de alimentos contra hongos y bacterias en la industria alimentaria, ofreciendo una alternativa prometedora para su aplicación como agentes conservantes (Boyle, 1955; Suhr y Nielsen, 2003; López Malo et al., 2005; Raybaudi-Massilia et al., 2006; Goñi et al., 2009).

1.2 Planteamiento del problema

En el ámbito de la preservación de productos alimentarios, la presencia de hongos representa un desafío significativo para la seguridad en la alimentación y la calidad de los productos. En particular, la resistencia de ciertos hongos a los métodos tradicionales de conservación ha generado la necesidad de explorar alternativas más efectivas (Holmes G.,1999; Fogliata, G., 2001). A este respecto se han desarrollado investigaciones sobre la efectividad de AE como albahaca (*Ocimum basilicum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*), clavo (*Syzygium aromaticum*), guanábana (*Annona muricata*), jengibre (*Zingiber officinale*), menta (*Mentha piperita*), orégano (*Origanum vulgare*), romero (*Rosmarinus officinalis*) y salvia (*Salvia officinalis*) sobre la inhibición de especies de hongos como de *Penicillium digitatum*, *Phytophthora cinnamomi* Rands y *Fusarium sp* (Gandarilla-Pacheco et al., 2020; Andrade-Hoyos et al., 2022). El AE de *C. zeylanicum* se ha estudiado por sus propiedades antimicrobianas, tales como eugenol es su componente principal de inhibición (Torres, 2009), sin embargo, aún no se establece la concentración óptima para la inhibición, por lo que en el presente estudio se determinó la CMI del AE de *C. zeylanicum* sobre *B. cinerea*, sobre *B.cinerea*, comparando los métodos de vertido en placa y fase vapor.

1.3 Justificación

La conservación de alimentos representa una dificultad para la humanidad debido a la contaminación por agentes patógenos, por ello, actualmente millones de alimentos se ven afectados a causa de algunos hongos (UNEP, 2021). En una variedad de artículos, se ha observado la notable acción fungicida del AE de *C. zeylanicum* contra varios agentes patógenos. El AE de *C. zeylanicum*, cuenta con compuestos como cinamaldehído, linalol, eugenol y 1,8 cineol, que han demostrado su eficacia en la inhibición del crecimiento de hongos como *Aspergillus niger*, *R. nigricans*, *A. flavus* y *P. expansum* (Baruah et al., 1996; Goubran & Holmes, 1993). Para la extracción del AE, se emplean varios métodos, como la hidrodestilación y el arrastre de vapor, la eficiencia de estos métodos y la ausencia de solventes contribuyen a la sostenibilidad ambiental (Requejo, 2020). El objetivo de este estudio es determinar la concentración mínima inhibitoria del AE de *C. zeylanicum* sobre *B. cinerea*. Esto proporciona fundamentos para futuras aplicaciones en la preservación de productos alimentarios, destacando la relevancia de AE de *C. zeylanicum*, como una opción sostenible y eficaz en la lucha contra la contaminación por hongos.

1.4 Hipótesis

El aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* inhibe el crecimiento del hongo *Botrytis cinerea*.

1.5 Objetivos

1.5.1 General

Extraer el AE de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y evaluar la capacidad de inhibición de los hongos en los alimentos.

1.5.2 Específicos

- Extraer el AE de *C. zeylanicum* mediante la destilación por arrastre de vapor.
- Evaluar el porcentaje de inhibición del AE de *C. zeylanicum*
- Calcular la concentración mínima inhibitoria del AE de *C. zeylanicum* sobre los hongos por el método de vertido en placa.
- Calcular la concentración mínima inhibitoria del AE de *C. zeylanicum* sobre los hongos por el método fase vapor.
- Determinar la resistencia de los hongos al AE de *C. zeylanicum*.

CAPÍTULO II.- MARCO TEÓRICO

2.1 Aceites Esenciales

Los aceites esenciales (AE) son compuestos naturales volátiles obtenidos de plantas, reconocidos por la influencia positiva que ejerce en la salud gracias a sus propiedades medicinales, así como por sus destacadas características antimicrobianas. Se emplean en la industria alimenticia debido a su creciente popularidad y aportes significativos a la salud. Estos AE, también conocidos como esencias, se caracterizan por su origen en estructuras especializadas de las plantas y su función en la polinización y la protección contra insectos y herbívoros. Con una amplia distribución en el reino vegetal, estos AE son fluidos que presentan una reducida capacidad de disolverse en agua, pero que exhiben solubilidad en alcoholes y solventes orgánicos y se distinguen por su coloración incolora al fresco, que puede cambiar a un tono amarillento oscuro con la oxidación. Su composición química y su capacidad para comunicarse a través del olfato los convierten en elementos esenciales en la interacción planta-ambiente. (López Luengo, 2004; Syafiq et al., 2020).

Los AE extraídos de plantas y frutas destacan como antimicrobianos naturales, con numerosos estudios que han documentado sus efectos antimicrobianos. Estos compuestos poseen un amplio espectro de actividad biológica, relevante en diversos campos como la química de alimentos, farmacología y farmacia. Su versatilidad radica en su consideración como generalmente reconocidos como seguros (GRAS) y habilidad de preservar las características sensoriales de los productos alimenticios con mínimos cambios. La actividad antimicrobiana de los AE se atribuye a la presencia de sustancias bioactivas como flavonoides, terpenos, cumarinas y carotenos (Kabara, 1991; Angion et al., 2003; Jo et al., 2004; Tepe, Daferera, Sokmen, Sokmen y Polissiou, 2005; Salgueiro et al., 2006; Akhila y Abraham, 2007; Dehghan et al., 2007; Ruiz Navajas, Fernández-López y Pérez-Álvarez, 2007).

2.1.1 Propiedades de los aceites esenciales

Los AE destacan por su actividad antifúngica, demostrando eficacia contra patógenos fúngicos. Sin embargo, su aplicación directa puede mostrar una menor actividad in vivo en comparación con estudios in vitro, además de la posibilidad de inducir efectos fitotóxicos o propiedades sensoriales negativas. A pesar de estos desafíos, se considera que la inclusión de

AE en formulaciones compuestas es una estrategia prometedora para aprovechar su potencial antifúngico (Álvarez, M. E. D et al., 2022).

2.1.2 Propiedades físicas de los aceites esenciales

Las propiedades físicas de los aceites esenciales son su capacidad para evaporarse y difundirse a temperatura ambiente. Por lo general, cuando se exponen al aire, se evaporan por completo. Recién destiladas, son incoloras o ligeramente amarillas. Es más ligero que el agua (a excepción del sazafrán o los extractos de clavo). Al tener casi siempre fuerza de rotación (rotación específica: debido a la presencia de centros quirales en su estructura), tienen un alto índice de refracción. Son solubles en alcohol y disolventes orgánicos como éter o cloroformo, así como en alcohol de alta calidad (Dolores, 2014).

2.2 Métodos de extracción de los aceites esenciales.

Tabla 1: Tipos de métodos de obtención de AE. Elaboración propia

Tipos de métodos de extracción de aceite esencial	Función
➤ Extracción mecánica o prensado en frío.	Esta tecnología se emplea para obtener los componentes aromáticos de la cáscara de frutas cítricas, que se extraen mediante prensado o molienda a 49°C. Y contienen ceras de otros productos volátiles, se obtiene por centrifugación, decantación y filtración.
➤ Extracción con solvente	La extracción por solventes opera a bajas temperaturas y por lo tanto no causa destrucción térmica ni cambios químicos en los elementos del AE; también, permite el aislamiento de elementos individuales y/o se encuentran en pequeñas cantidades.
➤ Método de extracción mecánica o prensado en frío (efs)	El método utiliza compuestas que se hallan en estados por encima de su temperatura y presión de origen cítrico, tiene excelentes desempeños, es ambientalmente amigable y solventes de sencilla remoción y regeneración, utiliza bajos solventes durante las temperaturas de extracción; al cambiar los parámetros operativos, es factible alterar la composición del AE resultante; el aceite no cambia

	químicamente, se pueden generar ácidos lipídicos, tintes y sustancias cerosas.
➤ Enflorado o impregnación (enflueraje)	Se utiliza para obtener AE de las flores utilizando la grasa que satura la esencia después de unos días de uso para luego separarla y extraer los compuestos aromáticos.
➤ Destilación con agua o hidrodestilación	Se basa en calentar agua mediante calentamiento directo, un revestimiento de vapor o un revestimiento de AE en la que se sumerge la materia orgánica de origen vegetal o en polvo para que el vapor de agua actúe sobre la mayor cantidad posible de partículas vegetales.
➤ Destilación mediante arrastre de vapor de agua	Este método implica la ebullición de agua para producir vapor, que, al interactuar con la materia orgánica de origen vegetal en el citoplasma, produce los AE. Luego, el vapor se condensa en un estado líquido a través de un condensador. Al finalizar la extracción, el AE se separa del agua, conocida como hidrolato, aprovechando la variación en sus densidades mediante un sifón.

2.2.1 Arrastre de vapor

Los AE son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes) (Martínez, 2013).

Se sabe que la destilación a vapor es el método más frecuente de extracción de AE, y existen muchas situaciones que considerar cuando de obtener un AE, se trata de la calidad en sí dependerá de factores que van desde el tratamiento postcosecha de la planta, procesamiento, almacenamiento, tipo de especie vegetal, condiciones climáticas, tiempo de destilación y método de obtención (Božovic et al. 2017).

2.2.1.1 Diagrama de destilación por Arrastre de vapor

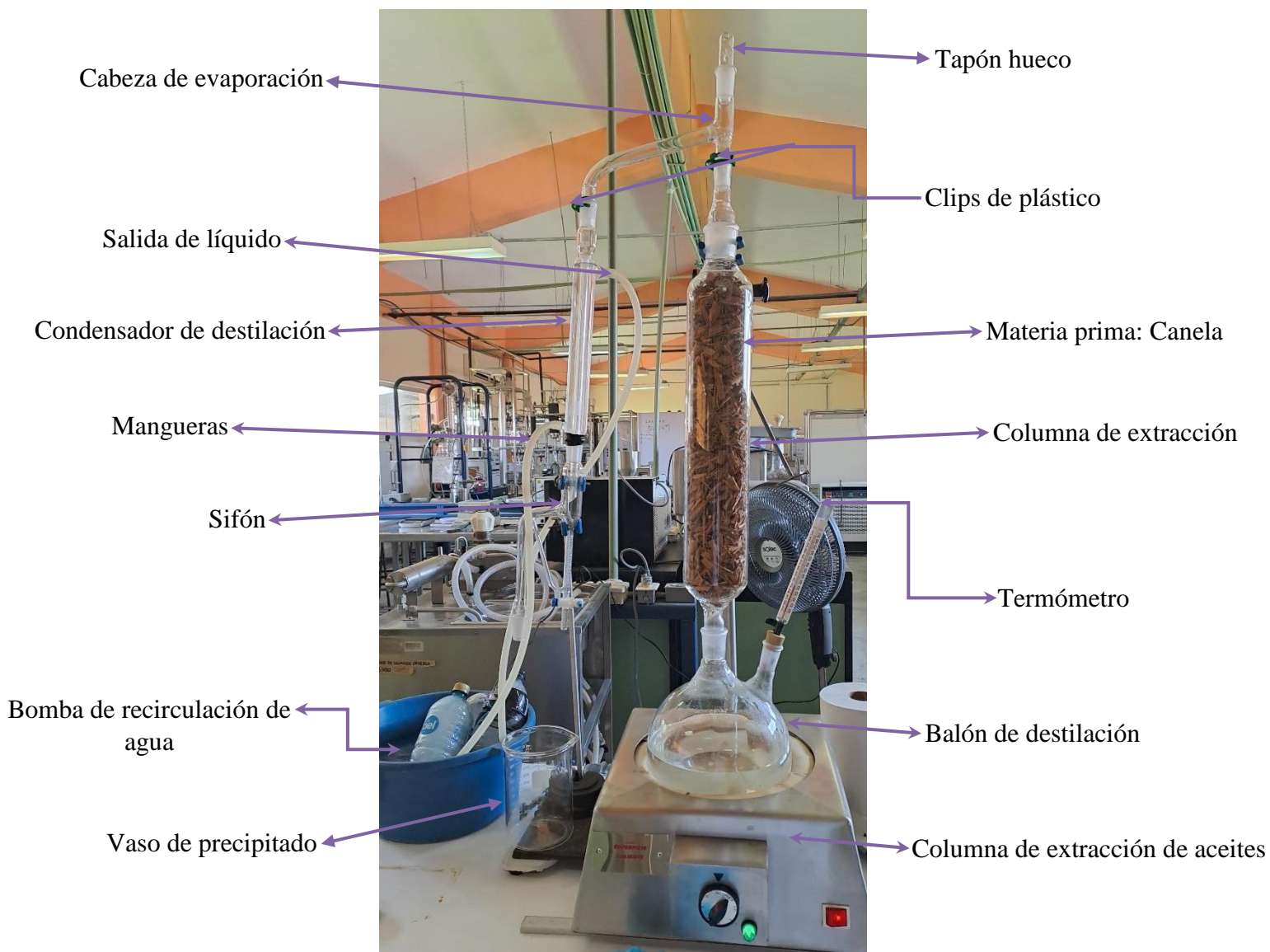


Figura 1: Equipo de arrastre de vapor. Elaboración propia

Es importante para que se pueda aplicar este método de destilación el componente volátil como una impureza sean insolubles en agua, ya que el producto destilado (volátil) formara dos fases al condensarse, lo cual permitirá la separación del producto y del agua fácilmente (Wankat, 1988).

2.3 Aceite esencial de *C. zeylanicum*

Este AE es un fluido de tonalidad amarilla o ámbar que tiende a oscurecerse y volverse más espeso. Escasamente soluble en agua, es altamente capaz de disolverse en alcohol y ácido acético glacial. El aroma distintivo se origina de la existencia de cinamaldehído, eugenol y alcohol cinámico. Se recomienda almacenarlo en recipientes llenos y herméticamente cerrados, evitando la exposición prolongada al calor. El AE de *C. zeylanicum*, conocido por sus propiedades aromáticas, antisépticas. Su valor como especia radica en el eugenol, componente principal que inhibe la proliferación de agentes patógenos (Torres, 2009; Lucero, 2011).

2.3.1 Principios Activos

El aceite de hoja de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) contiene principalmente 75-85% de eugenol, posee una notable actividad antibacteriana, y 5% de cinamaldehído, responsable del aroma y propiedades antimicrobianas. El AE de *C. zeylanicum* se utiliza como bactericida, gracias a su componente principal, el eugenol, con propiedades antifúngicas y antioxidantes, siendo considerado para el tratamiento poscosecha (FAO, 2006; Lucero, 2011; Ferreira et al., 2013; Montero et al., 2017).

2.4 Métodos de determinación del porcentaje de inhibición

2.4.1 Método de difusión en agar sólido

El enfoque facilita una evaluación efectiva de la susceptibilidad de las bacterias a agentes antimicrobianos, de forma esencial para determinar la eficacia de estos agentes en entornos clínicos. Con la finalidad de evaluar la actividad antimicrobiana y antifúngica de los AE, algunos autores han realizado modificaciones al método de difusión en agar sólido, adicionando aceite esencial para inhibir el desarrollo de hongos (Viuda-Martos et al. 2008).

Las propiedades físicas de los aceites esenciales son su capacidad para evaporarse y difundirse a temperatura ambiente. Por lo general, cuando se exponen al aire, se evaporan por completo. Recién destiladas, son incoloras o ligeramente amarillas. Es más ligero que el agua (a excepción del safrán o los extractos de clavo). Al tener casi siempre fuerza de rotación (rotación específica: debido a la presencia de centros quirales en su estructura), tienen un alto índice de refracción. Son solubles en alcohol y disolventes orgánicos como éter o cloroformo, así como en alcohol de alta calidad (Martínez, 2007).

2.4.2 Método de fase vapor

Es un hecho que desde hace bastante tiempo que gran variedad de AE, poseen propiedades antibacterianas. La primera medida experimental de las propiedades bactericidas de los vapores de aceites esenciales se dice que fue llevada a cabo por Boyle en 1955. Los AE, así como sus componentes tienen, presentan no solo propiedades antimicrobianas, sino también antivíricas, antifúngicas, herbicidas e insecticidas.

El método de fase de vapor consiste en la generación controlada de una atmósfera saturada con compuestos volátiles, como los AE, que interactúan con microorganismos presentes en un entorno específico. Esta técnica se utiliza para evaluar la actividad antimicrobiana de los compuestos volátiles, especialmente contra hongos y bacterias, ofreciendo una opción eficaz para uso como agentes conservantes en la industria alimentaria.

Los AE contienen compuestos secundarios de metabolización volátiles con actividad antifúngica y antimicrobiana, siendo útiles en la protección de alimentos contra hongos y bacterias. La evaluación de la capacidad antimicrobiana de los AE en fase de vapor ha arrojado resultados prometedores, destacando una mayor eficacia contra microorganismos fitopatógenos en comparación con métodos de incorporación directa en medios de cultivo. Sin embargo, la aplicación directa de AE en alimentos líquidos puede comprometer sus atributos sensoriales y calidad, lo que impulsa la búsqueda de alternativas como el uso de concentraciones bajas, mezclas sinérgicas o la aplicación en fase de vapor para minimizar estos efectos adversos (Suhr y Nielsen, 2003; López Malo et al., 2005; Raybaudi-Massilia et al., 2006; Goñi et al., 2009).

La producción de vapores de AE se sustenta en la formación de un ambiente en el que los compuestos volátiles interactúan con microorganismos presentes. Aunque no existe una metodología estándar para evaluar la inhibición microbiana por vapores de AE, se han propuesto algunos métodos, incluyendo el uso de cajas invertidas y la creación de atmósferas con concentraciones controladas de AE en cámaras selladas (Inouye et al., 2001; Edris y Farrag, 2003; Suhr y Nielsen, 2003; Inouye et al., 2006; Gómez-Sánchez et al., 2011; Kloucek et al., 2011).

Estos métodos ofrecen una forma de evaluar la capacidad antimicrobiana de los AE, proporcionando información relevante para su utilización en la industria alimentaria como agentes conservantes.

CAPÍTULO III.- ESTADO DEL ARTE

Varios autores han reportado al utilizar diferentes aceites esenciales varía el porcentaje de inhibición.

Microorganismos	Aceite esencial	Resultados	Referencia
<i>Aspergillus flavus</i>	➤ AE de hojas de <i>Cúrcuma longa L.</i>	Mostró una inhibición del 95,3 % y del 100 % de la producción de toxinas.	▪ Sindhu et al., (2011).
➤ <i>Aspergillus flavus</i> ➤ <i>Botrytis cinerea</i>	➤ AE de lima	Mostró un crecimiento fúngico osciló entre el 78,02% y el 84,5%.	▪ Hassanein et al., (2023).
❖ <i>Aspergillus flavus</i> ❖ <i>Botrytis cinerea</i>	➤ AE <i>Hymenaea stigonocarpa</i>	Se observaron, en el que la concentración más baja probada inhibió más del 70% del crecimiento micelial.	▪ Pimentel et al., (2023).
<i>Aleurocanthus woglumi</i>	➤ AE de <i>Citrus aurantium var. dulcis</i>	Se observó una inhibición del 91%.	▪ De Jesus Oliveira et al., (2024).
● <i>M. racemosus</i> ● <i>Aspergillus</i> ● <i>Fumigatus</i> ● <i>Cladosporium sphaerospermum</i> ● <i>Acremonio stricto</i> ● <i>A. niger</i>	❖ AE de orégano (<i>Origanum vulgare</i>)	Mostró una inhibición de 55%,20,6%, 11,1%, 7,9% y 4,7%.	▪ Chaves-López et al., (2012).
● <i>Penicillium digitatum</i> , ● <i>Phytophthora cinnamomi</i> Rands ● <i>Fusarium sp.</i>	AE de <i>O. basilicum</i> , <i>C. zeylanicum</i> , <i>S. aromaticum</i> , <i>A. muricata</i> , <i>Z. officinale</i> , <i>M. piperita</i> , <i>O. vulgare</i> , <i>R. officinalis</i> y <i>S. officinalis</i> .	Lograron una inhibición superior al 90% en los ensayos in vitro.	▪ Andrade-Hoyos et al., (2022).

<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Fusarium culmorum</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ○ AE <i>Artemisia herba-alba</i> 	Mostró un índice de inhibición del 70,58 %.	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Elwardani et al., (2024).
<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Fusarium solani</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ○ AE de limoncillo 	Mostraron una inhibición del (65,0%), (63,13%).	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Eke et al., (2020).
<ul style="list-style-type: none"> ● <i>Sclerotium rolfsii</i> Catt 	<ul style="list-style-type: none"> ● AE <i>Morinda citrifolia</i> L. 	El método curativo, mostró (56,4 %) como en el preventivo (71,2 %).	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Osório et al., (2021).

CAPÍTULO IV.- METODOLOGÍA

4.1. Obtención y acondicionamiento de la materia prima

La canela (*Cinnamomum zeylanicum*) fue adquirido en el mercado local de Álamo Temapache, se pesaron 4 kilos de *C. zeylanicum* y se cortaron en trozos de 1 cm aproximadamente. Se calculó el rendimiento de la extracción mediante la siguiente fórmula (Cano-Botero et al., 2023):

$$\%R = \frac{M (g) AE}{M (materia\ prima)} * 100\%$$

Donde:

Masa AE = Peso en g del Aceite esencial

Masa= Peso en g de la materia prima



Figura 2: Materia prima.



Figura 3: Acondicionamiento de materia prima.

4.2 Obtención del material biológico

El material biológico se obtuvo a partir de una muestra de uvas infectadas con moho gris (*Botrytis cinerea*), el hongo se inoculó en Agar Papa Dextrosa y se incubó a 26°C hasta su utilización.



Figura 4: Uva infectada del hongo *Botrytis cinerea*.

4.3 Extracción del AE de *C. zeylanicum*

Para la obtención de AE de *C. zeylanicum* se midieron 513 g de materia prima y se introdujeron en la columna del sistema de extracción mediante vapor arrastrado asistido por microondas. La extracción inició con una potencia de 1000 watts durante 20 minutos (esto con el fin de alcanzar la temperatura de ebullición), posteriormente se trabajó con una potencia de 600 watts manteniendo por ciclos de 20 minutos, por un periodo de 2 horas. Por último, el aceite esencial se colocó en el frasco ámbar con una capacidad de 20 ml, para luego almacenarlo a temperatura ambiente.



Figura 5: Introducir la materia prima en la columna.



Figura 6: AE de *C. zeylanicum*

4.4 Determinación del porcentaje de inhibición

Para la evaluación del porcentaje de inhibición de *Botrytis cinerea* por *C. zeylanicum* se ensayaron tres tratamientos utilizando distintas concentraciones de AE: 0.25, 0.5 y 0.75 ml de A.E.C/Agua.



Figura 7: Diferentes concentraciones de AE: 0.25, 0.5 y 0.75 ml de A.E.C/Agua.

4.4.1 Determinación del porcentaje de inhibición por el método de vertido en placa

Se inoculó *Botrytis cinerea* en el centro de cajas Petri con Agar Papa Dextrosa, previamente homogenizado con 1 ml de cada dosis de AE de *C. zeylanicum* (0.25, 0.5 y 0.75). Por triplicado. Así mismo, se inoculó un testigo que no contenía aceite esencial, como control. Las cajas se invirtieron e incubaron a 26 °C por 6 días, durante los cuales se midió el aumento del diámetro del micelio, hasta que el micelio del testigo cubrió toda la caja.



Figura 8: Método vertido en placa.



Figura 9: Crecimiento de Micelio.

4.4.2 Determinación del porcentaje de inhibición por el método de fase vapor.

Para la evaluación del porcentaje de inhibición por el método fase vapor se prepararon discos de papel filtro Whatman No. 40 de 6 cm de diámetro los cuales fueron impregnados con 1 ml de distintas concentraciones de AE de *C. zeylanicum* (0.25, 0.5 y 0.75 ml) y se colocaron en la tapa de las cajas Petri, previamente inoculadas con el hongo *Botrytis cinerea*. Se realizó por triplicado. Así mismo, se inoculó un testigo que no contenía aceite esencial, como control. Por último, se voltearon las cajas Petri y se colocaron en la incubadora a 26° C por 6 días. Se midió el diámetro del micelio hasta que el testigo cubrió toda la caja Petri.



Figura 10: Discos de papel filtro Whatman.



Figura 11: Método fase vapor.



Figura 12: Crecimiento de Micelio.

4.5 Análisis estadísticos

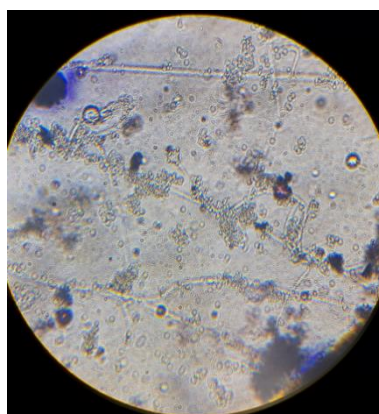
Se realizó el análisis de varianza del porcentaje de inhibición entre tratamientos y la prueba de comparación de medias por Tukey, para ambos métodos usando el software MINITAB (Minitab 18).

CAPÍTULO V.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

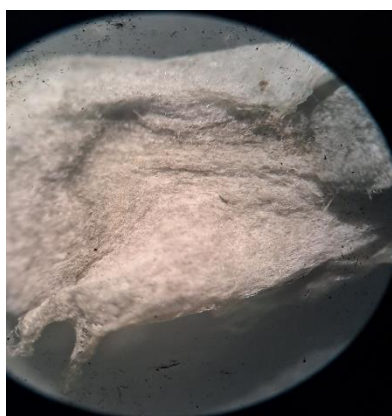
5.1 Identificación de *B. cinerea*



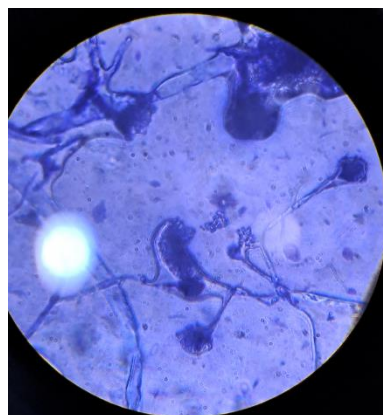
A



a



B



b

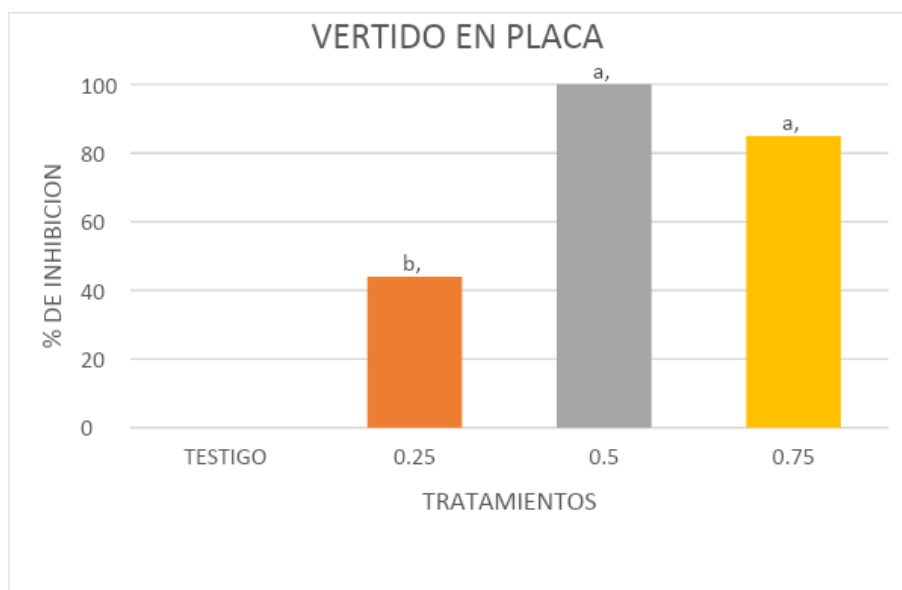
Figura 13: *B. cinerea* aislado de muestras de uvas infectadas.

En las figuras 1A y 1B se apreció el crecimiento de *B. cinerea* aislado a partir de una muestra de uvas contaminadas; las figuras 1a y 1b, presenta las muestras teñidas con colorante azul de metileno y con KOH-glicerina al 15% observadas con el objetivo de 40X.

5.2 Rendimiento del aceite esencial de *C. zeylanicum*.

A partir de 4 kg de materia prima *C. zeylanicum*, se obtuvieron 6 ml de AE, con un rendimiento del 0.13%, que se encuentra dentro del rango del rendimiento de aceites esenciales (López Luengo, M. T., 2004).

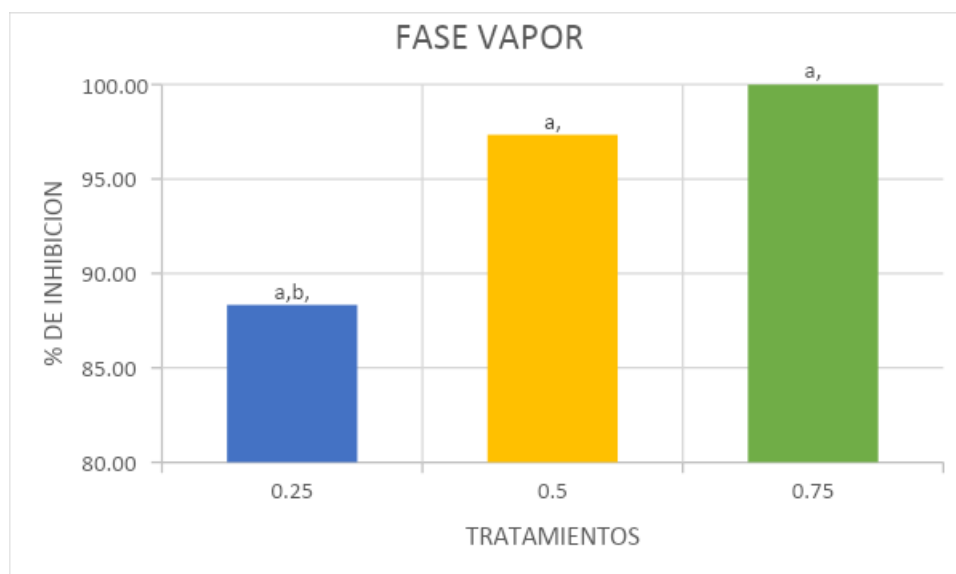
5.3.1 Porcentaje de inhibición por el método de vertido en placa con diferentes concentraciones de A.E.C.



Gráfica 1: Acción fungicida del aceite esencial de *C. zeylanicum* con el uso de diferentes concentraciones de A.E.C.

Como se observó en la gráfica 1, el análisis estadístico mostró que el tratamiento 1 es significativamente diferente de los tratamientos 2 y 3. Por otro lado, se encontró que el tratamiento 2 inhibe el crecimiento del micelio de *B. cinerea*, por lo que se puede inferir que la CMI del AE de *C. zeylanicum* en *B. cinerea* es la concentración de 0.5 ml de AE/0.5 ml de agua.

5.3.1 Porcentaje de inhibición por el método de fase a vapor con diferentes concentraciones de A.E.C.



Gráfica 2: Acción antifúngica del AE de *C. zeylanicum* con el uso de diferentes concentraciones de A.E.C.

Como se observó en la gráfica 2, por el método fase vapor, el análisis estadístico mostró que el tratamiento 1 es significativamente diferente de los tratamientos 2 y 3. Por otro lado, se encontró que el tratamiento 3 inhibe el crecimiento del micelio de *B. cinerea*, por lo que se puede inferir que la CMI del AE de *C. zeylanicum* sobre *B. cinerea* de 0.75 ml de AE/0.25 ml de agua.

Como se observó en las gráficas 1 y 2, el porcentaje de inhibición (88.33, 97.33%) en las concentraciones mínimas inhibitorias son del 0.25 y 0.5 de AE *C. zeylanicum* obtenido por el método de fase vapor en los tratamientos 1 y 2 fue superior que el obtenido en el método de vertido en placa, lo cual se puede atribuir a que en el método de vertido en placa, el aceite esencial de *C. zeylanicum* se añade directamente al medio de cultivo lo que provoca que los compuestos activos se disuelvan en el medio, esto puede limitar la capacidad de los compuestos activos para alcanzar al hongo debido a la difusión en el medio acuoso y la posible interacción con otros componentes del medio (Cox y otros, 2001; Martínez, 2007). En cuanto, al método de fase vapor, los compuestos activos se evaporan y se dispersan en forma de gas en el aire circundante. Esto significa que los compuestos activos están en estado gaseoso y pueden moverse libremente en el espacio, alcanzando así al hongo de manera más directa y

eficiente. Además, los compuestos volátiles como los fenoles presentes en el AE de *C. zeylanicum* tienen una mayor capacidad para penetrar las estructuras del hongo y ejercer su acción fungicida (Cox y otros, 2001; Martínez, 2007).

CONCLUSIONES

Los resultados adquiridos de esta investigación indican la existencia de un potencial prometedor en cuanto a la capacidad inhibitoria del crecimiento de *Botrytis cinerea* a través del uso del AE de *C. zeylanicum*. La extracción de AE de *C. zeylanicum* se llevó a cabo mediante el método de arrastre de vapor logrando una producción del 0.13% de AE a partir de 4 kg. En los ensayos de inhibición se compararon los métodos de vertido en placa y fase vapor obteniendo como resultado que al emplear el método de fase vapor con diferentes concentraciones de AE de *C. zeylanicum*, se lograron porcentajes de inhibición superiores en comparación con el método de vertido en placa. Es notable que, a pesar de la variabilidad entre tratamientos, el método de fase vapor destaca por su eficacia, sugiriendo su potencial como estrategia más efectiva para controlar *Botrytis cinerea* en comparación con el vertido en placa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A.L. Barry, D. Amsterdam, M. B. Coyle, E. H. Gerlach, C. Thornsberry, H. R. W, "Simple Inoculum Standardizing System for Antimicrobial Disk Susceptibility Test." J. Clin. Microbiology., Vol. 10, pp. 910, 1979.
2. Akhila, R., Estado, J. y Abraham, E. (2007). Actividad antimicrobiana y composición química del aceite esencial de *Hedychium coronario*. *Investigación en fitoterapia*, 21 (5), 439–443.
3. Álvarez, M. E. D., Palou, L., Taberner, V., Fernández-catalán, A., Argente-Sanchis, M., Pitta, E., & Pérez-Gago, M. B. (2022). Natural Pectin-Based edible composite coatings with antifungal properties to control green mold and reduce losses of 'Valencia' oranges. *Foods*, 11(8), 1083. <https://doi.org/10.3390/foods11081083>.
4. Andrade-Hoyos, P., Urrieta-Velázquez, J. A., Landero-Valenzuela, N., De La Cruz, H. R., Sampayo-Maldonado, S., & Luna-Cruz, A. (2022). Potencial de los aceites esenciales en el control de *Phytophthora cinnamomi* y *Fusarium Sp.* in vitro en *Cinnamomum verum*. *Terra Latinoamericana*, 40. <https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.1004>.
5. Angioni, A., Barra, A., Arlorio, M., Coisson, JD, Russo, MT, Pirisi, FM y col. (2003). Composición química, diferencias genéticas de las plantas y actividad antifúngica del aceite esencial de *Helicriso italicum* G.Don ssp. *microphyllum* (Willd) Nym. *Revista de Química Agrícola y Alimentaria*, 51 (4), 1030-1034.
6. Argueta Z, Vasquez M. 2005. Aplicación del método Mitscher en la determinación de la actividad antimicrobiana de un preservante natural patentado sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* [Tesis]. San Salvador: Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia.
7. Bai, X., Nakatsu, CH y Bhunia, AK (2021). Biopelículas bacterianas y sus implicaciones. en patogénesis y seguridad alimentaria. *Alimentos*, 10(9), 2117. <https://doi.org/10.3390/FOODS10092117>.
8. BARUAH, A., & NATH, S. C., PATHAK, M. G. (1996). Benzyl benzoate, the major component of the leaf and stem bark oil of *Cinnamomum zeylanicum* Blume. *Journal of Essential Oil Research*, 8(3), 327-328.

9. Botrytis: el hongo mágico de la guarda. Noticias de vinos y bebidas. espaciovino – Vinoteca online. (2012). Espaciovino. <https://www.espaciovino.com.ar/noticia/botrytis-el-hongo-magico-de-la-guarda-492>.
10. BOYLE, W. (1955). Spices and essential oils as preservatives. Pharm. J. Spices (EBBD, 190317544).
11. Božović, M., Navarra, A., Garzoli, S., Pepi, F., & Ragno, R. (2017). Essential oils extraction: a 24-hour steam distillation systematic methodology. Natural product research, 31(20), 2387-2396.
12. Cano-Botero, J. L., Ospina-Balvuela, Y., Gutiérrez-Cifuentes, J. A., & Ríos-Vásquez, E. (2023b). Hidrodestilación asistida por microondas de aceite esencial de cúrcuma longa (rizomas): optimización mediante superficie de respuesta. Revista de Investigación, Desarrollo e Innovación, 13(1). <https://doi.org/10.19053/20278306.v13.n1.2023.16061>.
13. Chaves-López, C., Martín-Sánchez, A. M., Fuentes-Zaragoza, E., Viuda-Martos, M., Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas, E., & Pérez-Alvarez, J. (2012). Role of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil as a surface fungus inhibitor on fermented sausages: Evaluation of its effect on microbial and physicochemical characteristics. Journal of Food Protection, 75(1), 104-111. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-11-184>.
14. Cox, SD, Mann, CM, Markham, JL, 2001. Interacciones entre componentes del aceite esencial de *Melaleuca alternifolia*. J. Aplica. Microbiol. 91, 492–497.
15. De Jesus Oliveira, J., Passos, E. M. D., Alves, S. P., Sarmiento, V. H. V., Bjerck, T. R., Cardoso, J. C., Blanco-Llamero, C., Souto, E. B., Severino, P., & Da Costa Mendonça, M. (2024). Microemulsion of essential oil of *Citrus aurantium* var. *dulcis* for control of *Aleurocanthus woglumi* and evaluation of selectivity against *Aschersonia aleyrodis* and *Ceraeochrysa cornuta*. Crop Protection, 106586. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2024.106586>.
16. Dehghan, G., Solaimanian, R., Shahverdi, AR, Amin, G., Abdollahi, M. y Shafiee, A. (2007). Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Ferula szowitsiana* corriente continua. Diario de sabores y fragancias, 22 (3), 224–227.

17. Dolores, P. L. (2014). Perfil fitoquímico del aceite esencial del fruto de tejocote mexicano. México.
18. Edris, A. y Farrag, E. 2003. Antifungal activity of peppermint and sweet basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Molecular Nutrition Food Research*. 47(2):112-121.
19. Eke, P., Adamou, S., Fokom, R., Nya, V. D., Fokou, P. V. T., Wakam, L. N., Nwaga, D., & Boyom, F. F. (2020). Arbuscular mycorrhizal fungi alter antifungal potential of lemongrass essential oil against *Fusarium solani*, causing root rot in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Heliyon*, 6(12), e05737. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05737>.
20. Elwardani, H., Oubihi, A., Haida, S., Ez-Zriouli, R., Kabous, K. E., & Ouhssine, M. (2024). Seasonal variation in essential oil composition of *Artemisia herba-alba* and their effects on antioxidant, antibacterial, and antifungal activities. *Chemical Data Collections*, 101118. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2024.101118>.
21. FAO. 2006. Cinnamomum oils (including cinnamon and cassia). Forestry Dept. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/V5350E/V5350e04.htm>. Consultado el Sep 8, 2006.
22. Fogliata, G, Torres L, Ploper L. Detection of imazalil-resistant strains of *Penicillium digitatum* Sacc. in citrus packing houses off Tucuman Province and their behavior against current employed alternative fungicides. *Rev Ind Agric Tucuman*. 2001; 77:71.
23. Ferreira, F.D.; Kimmelmeier, C.; Arrotéia, C; Costa, C.L. da; Mallmann, C.A.; Janeiro, V.; Ferreira, F.M.D.; Mossini, S.A.G.; Silva, E.L. & Machinski Jr., M. (2013) – Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link. *Food Chemistry*, vol. 136, n. 2, p. 789-793. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.08.003>.
24. Gandarilla-Pacheco, F. L., Torres-Caraballo, S., de Luna-Santillana, E. J., Quintero-Zapata, I., & Arroyo-González, N. (2020). Efecto inhibitorio de aceites esenciales en el crecimiento micelial de *penicillium digitatum* (pers.) sacc. aislado de naranja dulce (*citrus sinensis* osbeck). *Agrociencia*, 54(2), 209-225.
25. García-Camarillo, E. A., Quezada-Viay, M. Y., Moreno-Lara, J., Sánchez Hernández, G., Moreno-Martínez, E., & Pérez-Reyes, M. C. J. (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 [*Carya illinoensis* (FA Wangenh) K. Koch]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1).
26. Gómez-Sánchez, A., Palou, E. y López-Malo, A. 2011. Antifungal Activity Evaluation of Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) Essential Oil on the Growth of *Aspergillus flavus* by Gaseous Contact. *Journal of Food Protection*. 74 (12): 2192-2198.
 27. Goñi, P., López P., Sñanchez, C., Gómez-Lus, R., Becerril, R. Y Nerín C. 2009. Antimicrobial activity in the vapour phase of a combination of a combination of cinnamon and clave essential oils. *Food Chemistry*. 116 (14): 982-989.
 28. GOUBRAN, F. H., & HOLMES, R. J. (1993). The development of alternative fungicides from essential oils. Victoria, Australia: Institute for Horticultural Development, Knoxfield, Department of Agriculture, 1-45.
 29. Hassanein, M. M. M., Abdel-Razek, A. G., Al-Amrousi, E. F., & Badr, A. N. (2023). Application of lime peel oil composite nanoemulsion to prevent toxigenic fungi in nuts. *Heliyon*, 9(8), e18620. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18620>.
 30. Holmes G, Eckert J. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. *Phytopathol*. 1999; 89:716-21.
 31. Inouye, S., Takisawa, T. y Yamaguchi, H. 2001. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 47 (5): 565-573.
 32. Inouye, S., Uchida, K. y Abe, S. 2006. Vapor activity of 72 essential oils against a *Trichophyton mentagrophytes*. *Journal of Chemotherapy*. 12 (4):210-216.
 33. Jo, C., Park, BJ, Chung, SH, Kim, CB, Cha, BS y Byun, MW (2004). Actividad antibacteriana y antifúngica de los cítricos (Cítricos unshiu) Aceite esencial extraído de subproductos de la cáscara. *Ciencia de los alimentos y biotecnología*, 13,384–386.
 34. Kabara, JJ (1991). Fenoles y quelantes. En Nueva Jersey Russell y GW Gould (Eds.), *Conservantes de alimentos* (págs. 200-214). Glasgow: Blackie.
 35. Kloucek, P., Smid, J., Frankova, A., Kokoska, L., Valterova, I. y Pavela, R. 2011. Fast screening method for assessment of antimicrobial activity of essential oils in vapor phase. *Food Research International*. 0 (0): 1-5.

36. Liberal Amezqueta, D. (2016). Evaluación del potencial antifúngico de los aceites esenciales comerciales de Canela (*Cinnamomum verum* J.Presl) y Laurel (*Laurus nobilis* L.) en el control de *Botrytis fuckeliana* (de Bary) Whetzel, *Epicoccum nigrum* Link, *Curvularia hawaiiensis* Manamgoda, L. Cai, K.D Hyde and *Aspergillus niger* van Tieghem. <http://hdl.handle.net/10251/76535>.
37. López-Malo, A., Palou, E., León-Cruz, R. y Alzamora, S. 2005. Mixtures of natural and synthetic antifungal agents. *Advances in Food Mycology*. 571 (4): 261-286.
38. López Luengo, M. T. (2004). Los aceites esenciales. *OFFARM*, 23(7).
39. Lucero, O. (2011). Conservación de mora, uvilla y frutilla mediante la utilización de aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*). <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/737>.
40. M., Ruiz-Navajas, Viuda-Martos, Y., Fernández-López, J., & Pérez Álvarez, JA (2007). Actividades antifúngicas de los aceites esenciales de tomillo, clavo y orégano. *Revista de seguridad alimentaria*, 27,91–101.
41. Marcia, A. L. (2012). Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000100008
42. Martínez, A Manual del Cultivo de la Mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth): 1a. Ed. Ambato – Ecuador, 2007. Pp.7-30.
43. Martínez, A. (2013). Repositorio Universidad de Antioquía. Obtenido de Aceites Esenciales: http://www.medinformatica.net/TERAPEUTICASTAR/AceitesEsencialesUdeA_essentialas2001b.pdf
44. Montero-Recalde, M., Revelo, J., Avilés-Esquivel, D., Valle, E., & GuevaraFreire, D. (2017). Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial de Canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre Cepas de Salmonella. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(4), 987-993.
45. Osório, P. R. A., Dias, F. R., Mourão, D. S., Araújo, S. H. C., Toledo, P. F., Silva, A. C. F., Viera, W. A., Câmara, M. P. S., De Souza Moura, W., Aguiar, R. W., Oliveira, E. E., & Santos, G. R. D. (2021). Essential oil of Noni, *Morinda citrifolia* L., fruits controls the rice stem-rot disease without detrimentally affect beneficial fungi and

- ladybeetles. *Industrial Crops And Products*, 170, 113728. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113728>
46. Pimentel, F. C., Alves, C. C. F., Forim, M. R., Matos, A. P., Cunha, G. o. S., & De Melo Casal, C. (2023). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil from the *Hymenaea stigonocarpa* Mart. Ex Hayne (jatobá-do-cerrado) fruit peel. *Natural Product Research*, 1-5. <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2225123>.
 47. Raybaudi-Massilia, R., Soliva R. y Belloso, O. 2006. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y cortadas. Simpósio Ibero-AmericanO de Vegetales Frescos Costados, San Pedro, SP Brazil
 48. Requejo, A. 2020. Aceites esenciales en sinergia. Exlibric, Antequera, Málaga.
 49. Salgueiro, LR, Pinto, E., Gonçalves, MJ, Costa, I., Palmeira, A., Cavaleiro, C., et al. (2006). Actividad antifúngica del aceite esencial de *Thymus capitellatus* contra *Candida*, *Aspergillus* y dermatofito presiones. *Diario de sabores y fragancias*, 21 (5), 749–753.
 50. Sindhu, S., Chempakam, B., Leela, N. K., & Bhai, R. S. (2011). Chemoprevention by essential oil of turmeric leaves (*Curcuma longa* L.) on the growth of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), 1188-1192. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.02.014>
 51. SOLIMAN KM. Badeaa RI. 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and chemical toxicology*. 40(11):1669-1675. ISSN: 0278-6915. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(02\)00120-5](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(02)00120-5)
 52. Suhr, K. y Nielsen, P. 2003. Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology* 94 (4): 665-674.
 53. Syafiq R, Sapuan SM, Zuhri MYM, Ilyas RA, Nazrin A, Sherwani SFK, et al. Actividades antimicrobianas de biopolímeros y biocompuestos a base de almidón incorporados con aceites esenciales de plantas: una revisión. *Polímeros (Basilea)* 2020;12. <https://doi.org/10.3390/polym12102403>.
 54. Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. y Polissiou, M. (2005). Actividades antimicrobianas y antioxidantes de los aceites esenciales y diversos extractos de *Salvia tomentosa* Molinero (Lamiáceas). *Química de los Alimentos*, 90,333–340.

55. TORRES, L. (2009). Hierbas aromáticas y especias: albahaca, perejil, canela, azafrán-. Océano Ambar.
56. UNEP Food Waste Index Report. (2021). UNEP - UN Environment Programme. <https://www.unep.org/resources/report/unep-food-waste-index-report-2021>.
57. VELLUTI A, Sanchis V, Ramos A, Egidio J, Marin S. 2003. Inhibitory effect of cinnamon, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. International journal of food microbiology. 89:145-154. 1605(03)00116-8
58. Viuda-Martos, M., Y. Ruiz Navajas, et al. (2008). "Antibacterial activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils." *Journal of Food Safety* 28(4): 567-576.
59. Wankat, P.C.1988. Equilibrium Staged Separations. Separations in Chemical yield and chemical composition of the essential oil of *Satureja hortensis*. *Food Chemistry*. 99:1923.