



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN

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 (F. A. Wangenh) K. Koch]

**ACTIVIDAD DE INVESTIGACIÓN
ARTÍCULO**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :
INGENIERO AGRÍCOLA

P R E S E N T A :

ERICK ARTURO GARCÍA CAMARILLO

Asesor: M. en C. María Cristina Julia Pérez Reyes
Coasesor: M. en C. Martha Yolanda Quezada Viay

CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE

EXAMENES PROFESIONALES

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos :

El Artículo: 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 (F.A.Wangenh) K.Koch).

que presenta el pasante: Erick Arturo García Camarillo
con número de cuenta: 09516724-6 para obtener el título de :
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 16 de Abril de 2007

PRESIDENTE Dr. Ernesto Moreno Martínez

VOCAL Dra. Ma. del Rocío Azcárraga Rosette

SECRETARIO M.C. María Cristina Julia Pérez Reyes

PRIMER SUPLENTE Dr. Alejandro Espinosa Calderón

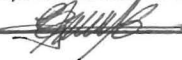
SEGUNDO SUPLENTE Dr. Oscar Arellano Díaz

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Erick Arturo

García Camarillo

FECHA: 29-06-07

FIRMA: 

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y Facultad de Estudios Superiores Cuatitlán (UNAM-FESC), Campo 4, por mi formación académica.

A la Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNAM-FESC) por sus instalaciones, equipo y material facilitado para realizar éste trabajo de investigación.

A mis asesores:

La M. en C. María Cristina Julia Pérez Reyes, por los conocimientos aportados, confianza y amistad que se dio durante la realización de éste proyecto.

La M. en C. Martha Yolanda Quezada Viay, por compartirme conocimientos, ayuda incondicional, y una dedicación muy especial a éste trabajo.

A las Maestras de La Unidad de Investigación en Granos y Semillas (UNAM-FESC) por sus aportaciones y observaciones.

Al Dr. Guillermo Fuentes, por la publicación de éste trabajo en la revista de La Sociedad Mexicana de Fitopatología.

A todos los profesores de Ingeniería Agrícola que contribuyeron en mi formación académica.

Al jurado de sinodales asignado para éste trabajo de investigación.

A mis compañeros de la generación 23 de Ingeniería Agrícola.

A mis amigos: Marco, David, Sergio, Daniel, Alejandro, Juan, Mayolo y Gabriel por su amistad.

DEDICATORIA

A mi angelito Erick Alejandro que es la luz y el corazón de mi vida.

A ti Mamá, por todo el amor y el apoyo en mis decisiones. Gracias Mamá por esa insistencia en estudiar y prepararme siempre. Te quiero y te admiro.

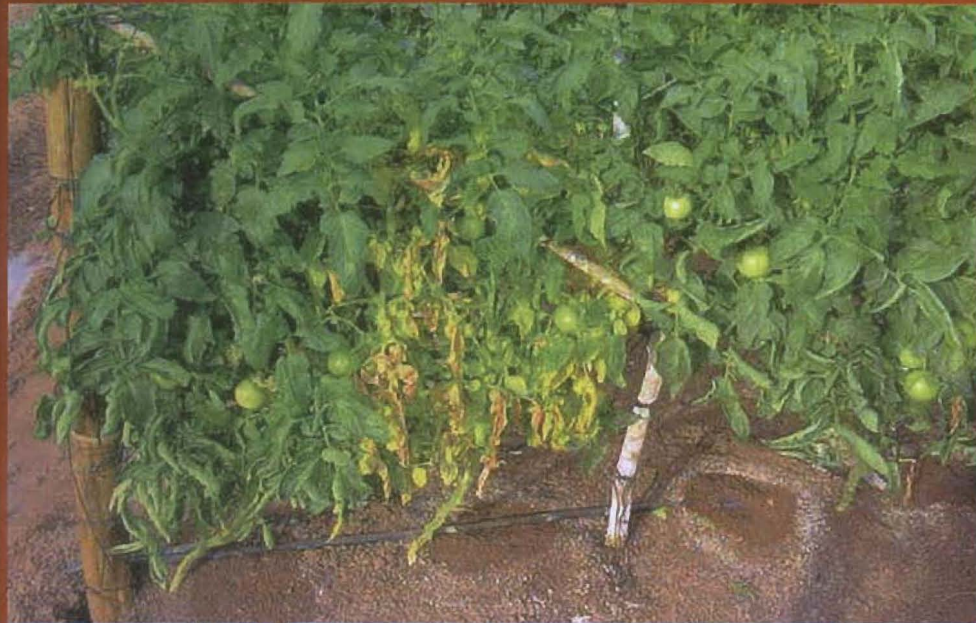
A mi sobrino Emmanuel, a mis hermanos Adriana y Omar. Gracias por su confianza, apoyo incondicional y todo su cariño.

A Salvador por sus consejos en todo momento que se necesita a un verdadero Amigo y Padre. Gracias Don Chava.

REVISTA MEXICANA DE FITOPATOLOGIA

MEXICAN JOURNAL OF PHYTOPATHOLOGY

VOLUMEN 24 NÚMERO 1, 2006



**Órgano Internacional de Difusión de la
Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.**

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* (F.A. Wangerh) K. Koch]

Erick Arturo García-Camarillo, Universidad Nacional Autónoma de México- Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán (UNAM-FESC), Ingeniería Agrícola, Campo 4, km 2.5 Carr. Cuautitlán-Teoloyucan, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México CP 54714; **Martha Yolanda Quezada-Viay, Josefina Moreno-Lara, Gabriela Sánchez-Hernández, Ernesto Moreno-Martínez y María Cristina Julia Pérez-Reyes**, UNAM-FESC, Unidad de Investigación en Granos y Semillas, Av. J. Jiménez Cantú s/n, Col. San Juan Atlamica, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México CP 54729. Correspondencia: crisp28@yahoo.com.mx

(Recibido: Enero 11, 2006 Aceptado: Marzo 24, 2006)

García-Camarillo, E.A., Quezada-Viay, M.Y., Moreno-Lara, J., Sánchez-Hernández, G., Moreno-Martínez, E. y 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* (F.A. Wangerh) K. Koch]. Revista Mexicana de Fitopatología 24:12-23.

Resumen. Los aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y orégano (*Origanum vulgare*) fueron evaluados para determinar su actividad antifúngica contra *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. Ambos aceites presentaron actividad fungicida *in vitro* contra *A. flavus*, el aceite esencial de orégano a partir de 1000 ppm y el de canela de 2000 ppm, en medio de cultivo de malta-sal-agar y un efecto fungistático en 100 ppm. Sin embargo, al evaluar el efecto inhibitorio en la producción de aflatoxinas por *A. flavus* en almendra de nuez pecanera irradiada, el aceite esencial de canela mostró mayor inhibición que el aceite esencial de orégano, ya que a los 30 días de almacenamiento a 85% de humedad relativa y 25°C, las nueces tratadas con 100 y 2000 ppm presentaron estadísticamente la misma concentración de aflatoxinas que las nueces sin inóculo, y en las nueces tratadas con aceite esencial de orégano, solamente en las que se aplicó una dosis de 2000 ppm, hubo inhibición en la producción de aflatoxinas.

Palabras clave adicionales: *Aspergillus flavus*, micotoxinas, fungicida, fungistático.

Abstract. The essential oils of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) and oregano (*Origanum vulgare*) were evaluated to determine their antifungal activity against *Aspergillus flavus*

and the production of aflatoxins in pecan nuts. Both oils showed fungicidal activity *in vitro* against *A. flavus*, the essential oil of oregano at 1000 ppm and cinnamon at 2000 ppm in malt-salt-agar medium, and a fungistatic effect at 100 ppm. However, when inhibition on aflatoxin production by *A. flavus* was evaluated in irradiated almond of pecan nuts, the essential oil of cinnamon showed a greater effect than the essential oil of oregano, since after 30 days of storage with 85% relative humidity at 25°C, nuts treated with 100 and 2000 ppm were statistically similar in aflatoxin concentration to nuts without inoculum, and only in nuts treated with essential oil of oregano at 2000 ppm, there was inhibition of aflatoxin production.

Additional keywords: *Aspergillus flavus*, micotoxins, fungicide, fungistatic.

En la última década la contaminación por mohos de diversas nueces, especialmente nuez pecanera [*Carya illinoensis* (F.A. Wangerh) K. Koch] (Vásquez-Barrios *et al.*, 2001), pistache (*Pistacia atlantica* Desf.) (Yazdanpanah *et al.*, 2005) y castaña (*Castanea sativa* Mill.) (Arrus *et al.*, 2005), representa un problema de salud pública. El deterioro y contaminación de las nueces por *Aspergillus flavus* Link:Fr. durante su almacenamiento es un problema importante, especialmente en países en desarrollo. Este hongo es productor de las micotoxinas más potentes que se conocen: las aflatoxinas, metabolitos secundarios, a los cuales se les ha atribuido actividad carcinogénica, mutagénica y teratogénica (Ruiqian *et al.*, 2004; Rustom, 1997). Es urgente desarrollar medidas de control que eviten la contaminación de las nueces con estas toxinas y minimizar los riesgos de afectar la salud humana por el consumo de estos alimentos contaminados.

Recientemente el uso de aceites esenciales y extractos vegetales como bactericidas y fungicidas ha cobrado mayor importancia (Gamboa *et al.*, 2002). Nguefack *et al.* (2004) demostraron las propiedades antifúngicas de algunos aceites esenciales extraídos de plantas en Camerún contra el desarrollo de *A. flavus*. Paster *et al.* (1990, 1995) reportaron el efecto inhibitorio del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) sobre el desarrollo de *A. flavus*, *A. ochraceus* K. Wilh. y *A. niger* Tiegh. *in vitro*, encontrando que a 2000 ppm este aceite controla el crecimiento micelial de estos hongos y tiene una actividad fungicida. Estos mismos investigadores demostraron que el aceite esencial de orégano controló *in vivo* eficientemente el desarrollo de hongos endógenos en trigo (*Triticum* sp). Yousef y Tawil (1980) y Tantaoui-Elaraki y Beraoud (1994) demostraron que el aceite esencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) presenta un efecto antifúngico. Morozumi (1978) demostró que el aceite esencial de canela es altamente efectivo en el control del desarrollo de *A. flavus* y *A. parasiticus* Speare. Rasooli y Razzaghi (2004) reportaron la actividad fungicida e inhibitoria de la producción de aflatoxinas por *A. parasiticus in vitro* del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris* L.). Patkar *et al.* (1994) evitaron la contaminación con aflatoxinas aplicando aceites esenciales de canela y clavo (*Sycygium aromaticum* Merr. and Perry) a grano de arroz (*Oryza sativa* L.) almacenado a 85 y 90% de humedad relativa. Montes-Belmont y Carvajal (1998) encontraron que los aceites esenciales obtenidos de canela, hierbabuena (*Mentha piperita* L.), orégano, epazote (*Teloxys ambrosioides* (L.) Weber, clavo y tomillo causaban la inhibición total del desarrollo de *A. flavus* en grano de maíz (*Zea mays* L.). La actividad antimicrobiana de estos aceites esenciales se ha atribuido a la presencia de compuestos aromáticos y grupos fenólicos como el eugenol en el aceite esencial de canela y el carvacrol en el aceite esencial de orégano (Farag *et al.*, 1989). El objetivo del presente estudio fue investigar la actividad antifúngica *in vitro* de los aceites esenciales de canela y orégano y su efecto inhibitorio en la producción de aflatoxinas en nuez pecanera almacenada en condiciones que favorecen su deterioro.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la cepa de *Aspergillus flavus* y su cultivo. La cepa de *A. flavus* productora de aflatoxinas se aisló de nuez pecanera de la variedad Wichita, procedente del municipio San Pedro de las Colonias, Coahuila, México.

Aceites esenciales. Los aceites esenciales de canela y orégano con pureza no especificada, grado alimenticio, fueron adquiridos en la Compañía Aceites y Esencias S.A.

Estudio *in vitro* de las propiedades antifúngicas de los aceites esenciales de canela y orégano. La prueba *in vitro* se realizó en placas de malta-sal-agar (MSA) con cinco concentraciones diferentes de cada aceite esencial: 100, 250, 500, 1000 y 2000 ppm, los cuales se mezclaron en la concentración deseada con los medios de cultivo semisólidos previamente esterilizados. Los medios con los tratamientos

se vertieron en cajas de Petri esterilizadas. Posteriormente, el hongo se sembró a manera de explantes discoidales de 4 mm de diámetro tomados con un sacabocado de una colonia de siete días de desarrollo, incubada a 25°C y se colocaron en el centro de las cajas de Petri con los tratamientos. El experimento se incubó a 25°C durante once días, y para la evaluación se midieron dos diámetros perpendiculares de la colonia con un Vernier y se calculó el promedio del crecimiento. Se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento más un testigo con inóculo sin tratamiento para cada uno de los aceites y dosis probadas en este estudio.

Evaluación del efecto fungicida y fungistático de los aceites esenciales. Para determinar el efecto fungicida y fungistático de los aceites esenciales de canela y orégano se transfirieron los explantes discoidales de inóculo que no presentaron crecimiento micelial en los tratamientos probados, a medios de cultivo de MSA libres de aceites esenciales. Estos se incubaron a 25°C durante once días y posteriormente se evaluó el desarrollo de las colonias, considerando un efecto fungicida en aquéllos que no presentaron crecimiento del hongo y fungistático para los que sí lo presentaron.

Evaluación de la inhibición de la producción de aflatoxinas en nuez pecanera tratada con aceite esencial de orégano y canela. Las almendras de nuez (4 kg) fueron irradiadas con rayos gamma de ⁶⁰Co en una dosis de 10 KG y en un irradiador Gamma bean 651 PT, en el Instituto de Ciencias Nucleares de la Universidad Nacional Autónoma de México. Una vez irradiadas las nueces se tomaron muestras de 50 g, se trataron con soluciones de cada aceite esencial preparados en concentraciones de 100 y 2000 ppm, utilizando Tween 80 (10%) como agente emulsificante (Velluti *et al.*, 2004) y se inocularon con un solo explante discoidal de una colonia de *A. flavus* incubada durante siete días. Posteriormente se incubaron a 25°C durante 30 días en una humedad relativa de 85%, mantenida con una solución sobresaturada de cloruro de potasio. Se realizaron muestreos a los 7, 14 y 30 días para determinar la concentración de aflatoxinas.

Determinación de la concentración de aflatoxinas. Se determinaron aflatoxinas totales en las muestras de nuez siguiendo el método 991.31 de inmunoensayo de la AOAC Internacional (1995). El método consistió en la extracción de las aflatoxinas totales con metanol al 60% a partir de 50 g de nuez molida y su retención en columnas de afinidad de la marca Afla Test-P con anticuerpos monoclonales. La cuantificación se llevó a cabo en un fluorómetro marca VICAM serie 4, calibrado previamente con un estándar de aflatoxinas.

Análisis estadístico. El análisis de varianza de los datos obtenidos con la prueba de la actividad antifúngica *in vitro* se realizó bajo un arreglo factorial completamente al azar A x B con tres repeticiones, donde A = aceites esenciales y B = dosis. Los resultados de la evaluación de la inhibición de la producción de aflatoxinas en nuez pecanera tratada con aceite

esencial de orégano y canela se analizaron también bajo un diseño completamente aleatorizado A x B x C con tres repeticiones, donde A = aceites esenciales, B = dosis y C = período de almacenamiento. Las medias obtenidas se sometieron a comparación estadística de Tukey ($p < 0.05$), en el paquete Instat versión 3.0 de la compañía Graph Pad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades antifúngicas de los aceites esenciales de canela y orégano *in vitro*. Los aceites esenciales de canela y orégano presentaron un efecto antifúngico sobre *A. flavus* (Cuadro 1). A partir de la dosis mínima probada, 100 ppm, se presentó una inhibición del desarrollo del hongo. Este efecto fue mayor con el aceite esencial de orégano, el cual inhibió en un 91% el diámetro de la colonia en la caja de Petri, comparado con un 83% de inhibición en presencia del aceite esencial de canela. A partir de una concentración de 250 ppm de ambos aceites esenciales, se inhibió completamente el crecimiento de la colonia de *A. flavus*. Estos resultados coinciden con lo reportado por Soliman y Badeaa (2002) quienes encontraron que la canela inhibió completamente el desarrollo de *A. flavus* en una dosis de 500 ppm. Los tres componentes del aceite de canela que han sido identificados como los agentes activos contra hongos son: aldehído cinámico (Bullerman, 1974), *O*-metoxicinamaldehído (Morozumi, 1978) y eugenol (Velluti *et al.*, 2003). Al transferir los explantes discoidales de inóculo que no presentaron desarrollo en los medios de cultivo con aceites esenciales a medios de MSA libres de ellos, se observó un efecto fungistático para los tratamientos de 250, 500 y 1000 ppm del aceite esencial de canela y en el caso del aceite

esencial de orégano para las concentraciones de 250 y 500 ppm (Cuadro 1). La dosis mínima fungicida para el aceite esencial de orégano fue de 1000 ppm y de 2000 ppm para el aceite esencial de canela. Estos resultados demostraron que el aceite esencial de orégano presentó una mayor actividad antifúngica sobre el desarrollo de *A. flavus in vitro*, comparado con el aceite esencial de canela, contrario a los resultados publicados por Nielsen y Rios (2000), quienes encontraron que la canela mostró mayor actividad antifúngica comparada con el orégano.

Inhibición de la producción de aflatoxinas en nuez pecanera tratada con aceite esencial de orégano y canela.

Los niveles de aflatoxinas determinados en las nueces tratadas con los aceites esenciales a lo largo de los 30 días que duró el período de almacenamiento (Cuadro 2), se compararon con las concentraciones determinadas en muestras de nueces sin inóculo (testigo sin inóculo) y con las de muestras de nueces inoculadas con el hongo (testigo con inóculo) sin haberles aplicado aceites esenciales. A los siete días de almacenamiento de la nuez, las dosis de 100 y 2000 ppm de los dos aceites esenciales, mantuvieron similares niveles de aflatoxinas que los cuantificados en la muestra testigo sin inóculo y por debajo de los niveles encontrados en el testigo con inóculo. A los 14 días de almacenamiento, la dosis de 100 ppm del aceite esencial de orégano no presentó efecto inhibitorio en la producción de aflatoxinas, aunque sí mantuvo un nivel inferior al 30% del total de aflatoxinas determinadas en la muestra del testigo con inóculo. A los 30 días de almacenamiento, las muestras tratadas con 100 y 2000 ppm del aceite esencial de canela y con 2000 ppm del aceite esencial de orégano presentaron estadísticamente los mismos niveles de aflatoxinas reportados para el testigo sin inóculo. Las muestras tratadas con 100 ppm de aceite esencial de orégano no presentaron diferencias significativas con los

Cuadro 1. Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y orégano (*Origanum vulgare*) en diferentes concentraciones sobre el desarrollo de *Aspergillus flavus*.

Aceite esencial (ppm)	Crecimiento de la colonia (cm)	Grado de inhibición (%)	Actividad antifúngica
Canela			
0	8.1 a*		
100	1.4 b	83	Ft**
250	0 d	100	Ft
500	0 d	100	Ft
1000	0 d	100	Ft
2000	0 d	100	Fg
Orégano			
0	8.1 a		
100	0.7 c	91	Ft
250	0 d	100	Ft
500	0 d	100	Ft
1000	0 d	100	Fg
2000	0 d	100	Fg

*Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

**Ft = fungistática; Fg = fungicida.

Cuadro 2. Nivel de aflatoxinas en nuez pecanera (*Carya illinoensis*) inoculada con *Apergillus flavus*.

Tratamiento	Nivel de Aflatoxinas (ppb)			
	Período de Almacenamiento			
	0	7	14	30
Testigo s/i*	5 a**	6 b	5 c	8 b
Testigo c/i	5 a	97 a	530 a	2175 a
Canela				
100 ppm	5 a	14 b	9 c	151 b
2000 ppm	5 a	12 b	5 c	38 b
Orégano				
100 ppm	5 a	24 b	175 b	2750 a
2000 ppm	5 a	16 b	14 c	161 b

*s/i = sin inóculo; c/i = con inóculo; d = días; ppb = partes por billón.

**Letras diferentes en la columna indican diferencias significativas (Tukey, $p < 0.05$).

niveles determinados en el testigo con inóculo para este mismo período de almacenamiento. En la nuez tratada con el aceite esencial de orégano, se observó que la concentración de 2000 ppm inhibió la producción de aflatoxinas y la concentración de 100 ppm la incrementó, esto puede deberse a que se pierde la actividad protectora y la capacidad de inhibición del crecimiento del hongo, y por tanto se presenta la producción de aflatoxinas. Es importante señalar que el aceite esencial de canela fue el que presentó el mejor efecto inhibitorio sobre la producción de aflatoxinas en almendras de nuez pecanera comparado con el aceite esencial de orégano. Existen trabajos realizados por varios investigadores, en donde se ha encontrado que el aceite esencial de canela, además de presentar un efecto antifúngico, inhibe la producción de aflatoxinas (Bullerman, 1974; Bullerman *et al.*, 1977; Chalfoun *et al.*, 2004; Hitokoto *et al.*, 1979; Mabrouk y El-Shayeb, 1980; Sinha *et al.*, 1993). Es importante señalar que la inhibición del crecimiento de *A. flavus* fue dependiente de las concentraciones empleadas en este estudio. Existe una relación entre el incremento de la concentración del aceite esencial y la inhibición en la producción de aflatoxinas, por lo que se deben aumentar las dosis de los aceites esenciales probados, asegurando niveles de aflatoxinas permitidos para el consumo humano. Los resultados obtenidos en este trabajo indican claramente que los aceites esenciales son una alternativa de aplicación práctica en la inhibición de la producción de aflatoxinas en nuez almacenada. Asimismo, pueden aplicarse con seguridad como conservadores y aditivos en algunos alimentos así como en granos y semillas. Estos aceites esenciales pueden ser usados como sustitutos de fungicidas químicos, ya que son inocuos y biodegradables.

Agradecimientos. Este estudio se llevó a cabo con el apoyo financiero de la cátedra clave IN2-26, con número de acuerdo 154, de la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán (FESC-UNAM).

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1995. Official Method 991.31. Aflatoxins in corn, raw peanuts, and peanut butter. Immunoaffinity column (aflatest) method. First action 1991. AOAC-IUPAC method. pp. 20-21. In: AOAC International (ed.). Official method of Analysis. Natural Toxins, chapter 49. Arlington, VA, USA. 325 p.
- Arrus, K., Blank, G., Abramson, D., Clear, R., and Holley, R.A. 2005. Journal of Stored Products Research 41:513-527.
- Bullerman, L.B. 1974. Inhibition of aflatoxin production by cinnamon. Journal of Food Science 39:1163-1165.
- Bullerman, L.B., Lieu, F.Y., and Seief, S.A. 1977. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils, cinnamic aldehyde and eugenol. Journal of Food Science 42:1107-1109.
- Chalfoun, S.M., Pereira, M.C., Resende, M.L., Lima-Angélico, C., and Da Silva, R.A. 2004. Effect of powdered spice treatments on mycelial growth, sporulation and production of aflatoxins by toxigenic fungi. Ciência Agrotecnologia 28:856-862.
- Farag, R.S., Daw, Z.Y., and Abo-Raya, S.H. 1989. Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. Journal of Food Science 54:74-76.
- Gamboa-Alvarado, R., Hernández-Castillo, F.D., Guerrero-Rodríguez, E., Sánchez-Arizpe, A. y Lira-Saldívar, R. 2002. Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales metanólicos de hojásén (*Flourensia cernua* D.C.), mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla [*Bouvardia ternifolia* (Ca) Schlecht]. Revista Mexicana de Fitopatología 21:13-18.
- Hitokoto, H., Morozumi, S., Wauke, T., Sakai, S., and Ueno, I. 1979. Inhibitory effects of condiments and herbal drugs on the growth and toxin production of toxigenic fungi. Mycopathologia 66:161-167.
- Mabrouk, S.S., and El-Shayeb, N.M. 1980. Inhibition of aflatoxin formation by some spices. Zeitschrift fur Lebensmittelchemie Unters Forschungsanstalt 171:344-347.
- Montes-Belmont, R., and Carvajal, M. 1998. Control of *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. Journal of Food Protection 61:616-619.
- Morozumi, S. 1978. Isolation, purification and antibiotic activity of *o*-methoxycinnamaldehyde from cinnamon. Applied Environmental Microbiology 36:577-583.
- Nielsen, V., and Rios, R. 2000. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. International Journal of Food Microbiology 60:219-229.
- Nguefack, J., Leth, V., Amvam-Zollo, P.H., and Mathur, S.V. 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. International Journal of Food Microbiology 94:329-334.
- Paster, N., Juven, B.J., Shaaya, E., Menasherov, M., Nitzan, R., Weisslowicz, H., and Ravid, U. 1990. Inhibition effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. Letters in Applied Microbiology 11:33-37.
- Paster, N., Menasherov, M., Ravid, U., and Juven, B.J. 1995. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. Journal of Food Protection 58:81-85.
- Patkar, K.L., Usha, C.M., Shetty, H.S., Paster, N., and Lacey, J. 1994. Effects of spice oil treatment of rice on moulding and mycotoxin contamination. Crop Protection 13:519-524.
- Rasooli, I., and Razzaghi, M. 2004. Inhibitory effects of thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus*

Página E

- parasiticus*. Food Control 15:479-483.
- Ruiqian, L., Qian, Y., Thanaboripat, D., and Thansukon, P. 2004. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. KMITL Science Journal 4:1685-2044.
- Rustom, I.Y.S. 1997. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physycal methods. Food Chemistry 59:57-67.
- Sinha, K.K., Sinha, A.K., and Prasad, G. 1993. The effect of clove and cinnamon oils on growth of and aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. Letters in Applied Microbiology 16:114-117.
- Soliman, K.M., and Badeaa, R.I. 2002. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and Chemical Toxicology 40:1669-1675.
- Tantaoui-Elaraki, A., and Beraoud, L. 1994. Inhibition of growth and aflatoxin production in *Aspergillus parasiticus* by essential oils of selected plant materials. Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology 13:67-72.
- Vásquez-Barrios, M.E., Martínez-Peniche, R., and Fernández-Escartín, E. 2001. Development of toxigenic *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* on kernels of native pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh) K. Koch] genotypes under different water activities. Scientia Horticulturae 89:155-169.
- Velluti, A., Marin, S., Gonzalez, P., Ramos, A.J., and Sanchis, V. 2004. Initial screening for inhibitory activity of essential oils on growth of *Fusarium verticillioides*, *F. proliferatum* and *F. graminearum* on maize-based agar media. Food Microbiology 21:649-656.
- Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A.J., Ejido, J., and Marín, 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. Journal of Food Microbiology 89:145-154.
- Yazdanpanah, H., Mohammadi, T., Abouhossain, G., and Cheraghali, A.M. 2005. Effect of roasting on degradation of aflatoxins in contaminated pistachio nuts. Food and Chemical Toxicology 43:1135-1139.
- Yousef, R.T., and Tawil, G.G. 1980. Antimicrobial activity of volatile oils. Pharmazie 35:698-701.