

# Efecto del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y su combinación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.), variedad morado

Effect of essential oil of clove (*Syzygium aromaticum*), cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), and their combination on the antifungal action in *Aspergillus flavus* on purple corn chicha agar

Carlos Armas Caballero<sup>1</sup>, Luis Márquez Villacorta<sup>2</sup>,  
Carla Pretell Vásquez<sup>3</sup>

## RESUMEN

Se evaluó el efecto del aceite esencial de clavo de olor, canela y su combinación a diferentes concentraciones sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz (*Zea mays* L.) variedad morado. Se utilizó el extracto concentrado del maíz (pH 3,2) en combinación con almidón de papa blanca, glucosa y agar para la obtención del agar chicha de maíz morado, al cual se adicionó los aceites esenciales solos o en combinación a las concentraciones de 0,05; 0,10 y 0,20%. Con la técnica de puntura se sembró el hongo en la superficie central del medio de cultivo; las placas se incubaron a 28 °C, evaluándose el diámetro del halo de crecimiento con una regla milimétrica a las 12, 24, 36, 48, 60 y 72 h. El análisis de varianza, con un nivel de confianza del 95%, determinó el efecto significativo del aceite esencial de clavo de olor, canela y su combinación a las diferentes concentraciones sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus*. El aceite esencial de clavo de olor al 0,20% produjo la mayor acción fungistática sobre *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz morado durante 72 h a 28 °C. La prueba de comparación múltiple de Tamhane determinó que, estadísticamente, los aceites esenciales y su combinación a 0,20% produjeron la misma acción antifúngica sobre *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz morado.

**Palabras clave:** Aceite esencial, *Aspergillus flavus*, fungistático.

---

<sup>1</sup> Ingeniero en Industrias Alimentarias. Egresado de la Universidad Privada Antenor Orrego.

<sup>2</sup> Ingeniero en Industrias Alimentarias, Maestro en Tecnología de Alimentos. Docente de la Universidad Privada Antenor Orrego. (lmarquezv01@yahoo.es)

<sup>3</sup> Ingeniera en Industrias Alimentarias, Maestra en Tecnología de Alimentos. Docente de la Universidad Privada Antenor Orrego.

## ABSTRACT

The effect of clove essential oil of clove, cinnamon, and their combination to different concentrations on the antifungal action in *Aspergillus flavus* on purple corn chicha agar was evaluated. Concentrate extract of maize (pH 3.2) was used in combinations with starch of white potato, glucose, and agar to obtain a purple corn chicha agar, to which essential oils alone or in combination at concentrations of 0,05; 0,10 y 0,2%. With the puncture technique, the fungus was planted on the central area of culture medium; the plates were incubated at 28 °C, evaluated the diameter of the halo of growth with a millimeter rule at 12, 24, 36, 48, 60, and 72 hours. The variance analysis, with a confidence level of 95%, gave a significant effect of essential oil of clove, cinnamon, and their combinations to different concentrations on antifungal action in *Aspergillus flavus*. The clove essential oil at 0,20% produced the most fungistatic action in *Aspergillus flavus* on purple corn chicha agar during 72 hours at 28 °C. The multiple comparison test of Tamhane determined that the essential oils and its combinations at concentration of 0,20% produced the same antifungal action on *Aspergillus flavus* on purple corn chicha agar.

**Key words:** Essential oil, *Aspergillus flavus*, fungistatic.

## INTRODUCCIÓN

En el mundo moderno la población crece aceleradamente y también las enfermedades como: las infecciosas producidas por bacterias, virus, hongos, y otras. A pesar que existen muchos antibacterianos para su control o tratamiento, su uso irracional genera resistencia microbiana y otras secuelas. La biodiversidad vegetal ofrece alternativas antimicrobianas; algunas especies con excelentes resultados, debido a sus componentes químicos (Carhuapoma, 2009).

Para inhibir el crecimiento de microorganismos indeseables en alimentos son empleados agentes químicos con actividad antimicrobiana o compuestos presentes de manera natural o sustancias derivadas de la actividad biológica y que son llamados en conjunto antimicrobianos naturales (Barreto, 2003).

Los antimicrobianos naturales, con posible aplicación en alimentos, se encuentran en un gran número de tejidos vegetales como la corteza, las ramas, hojas, flores y frutos; varios tejidos animales y sustancias producidas por microorganismos. La selección, procesamiento (extracción, purificación) y aplicación de un agente antimicrobiano depende de muchos factores: estructura del alimento, factores de procesamiento y atributos sensoriales del alimento y del agente antimicrobiano añadido (Barreto, 2003). Los tejidos vegetales cuentan con mecanismos de defensa cuando se ven expuestos a estrés, una de las respuestas es la liberación de compuestos volátiles que poseen toxicidad contra patógenos (González y otros, 2005).

Para aplicar antimicrobianos en alimentos se requiere de información de estudios *in vitro*, para

determinar su eficacia, y así poder, estimar el comportamiento del antimicrobiano natural cuando se adiciona al sistema alimenticio (López-Malo y otros, 2005).

Los aceites esenciales son productos naturales de valor e importancia económica. Su bioactividad se investiga a partir de los efectos farmacológicos, producidos por sus metabolitos, los cuales son obtenidos por diferentes técnicas fisicoquímicas de los tejidos vegetales (Cano y otros, 2007). Los aceites esenciales son en su mayoría sustancias terpénicas y fenilpropánicas, que se almacenan en los tejidos de órganos vegetales secretores de compuestos aromáticos. Estudios han demostrado la actividad antimicrobiana de aceites esenciales, los cuales pueden contener más de 150 componentes (Carhuapoma, 2009).

Los antimicrobianos naturales más estudiados son los aceites esenciales, de plantas, hierbas o especias como: la pimienta de Jamaica (*Pimenta dioica*), orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*) clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum zeylanicum*); siendo sus principales constituyentes: el eugenol, timol, carvacrol y aldehído cinámico (López - Malo, 2000).

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se basa en el deterioro de varios sistemas enzimáticos, incluidos los involucrados en la producción de energía y la síntesis de componentes estructurales. Los compuestos fenólicos y terpénicos afectan la actividad de las enzimas catalizadoras a nivel de la membrana, actuando como desacopladores, los cuales interfieren en la traslocación de protones sobre la membrana y subsecuentemente interrumpen la fosforilación del adenosina difosfato (Cano, 2007).

El aceite esencial de clavo de olor contiene 85 - 95% de eugenol y acetileugenol; adicionalmente,  $\alpha$  y  $\beta$  cariofilenos y pequeñas cantidades de ésteres, cetonas y alcoholes (Pilco y otros, 2009). El aceite esencial de canela está constituido fundamentalmente por 65 - 75% de aldehído cinámico y de 5 - 10% de eugenol (Albo, 2001).

Desde el punto de vista bioquímico, las plantas han desarrollado dos tipos de compuestos para su defensa al ataque de los hongos: 1) Los antifúngicos constitutivos o inhibidores, los cuales, existen en las plantas estructuralmente para detener la invasión de especies de hongos y 2) fitoalexinas, que se producen como respuesta a la infección de patógenos más específicos, por reacciones bioquímicas rápidas, como la hidrólisis enzimática. Se ha demostrado que un mismo compuesto químico puede actuar en una planta de las dos formas antes mencionadas. La tendencia actual es eliminar esta división y se prefiere describir estos compuestos como metabolitos antifúngicos de bajo peso molecular (Montes y otros 2000).

Las aflatoxinas son las micotoxinas que han sido más profundamente estudiadas en todo el mundo. Existiendo investigaciones sobre la presencia de estas toxinas en maíz destinado al consumo animal o humano (Robledo y otros 2001). Estudios epidemiológicos indican que existe una correlación positiva entre cáncer hepático, y consumo de alimentos contaminados con aflatoxinas. La aflatoxina puede actuar como iniciadora y promotora de cáncer en humanos y en diversas especies animales. Las aflatoxinas B (fluorescencia azul) y G (fluorescencia verde) se producen cuando los hongos *Aspergillus flavus* y/o *Aspergillus parasiticus* crecen en diversos alimentos durante el cultivo y almacenamiento, que sirven como sustrato ideal, como el maíz, trigo, arroz, frejol, sorgo, cebada, oleaginosas, frutas secas, y otros (Anguiano y otros 2005).

Los objetivos planteados para esta investigación fueron:

- Evaluar el efecto del aceite esencial de clavo de olor, canela y su combinación a diferentes concentraciones sobre la acción antifúngica de *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz, variedad morado.
- Determinar el tipo de esencia y la concentración con la mayor acción antifúngica sobre *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz, variedad morado.

## METODOLOGÍA EMPLEADA

### Lugar de ejecución

Las pruebas experimentales se realizaron en el Laboratorio de Ciencia de Alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias y el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo.

### Material biológico

Maíz (*Zea mays* L.), variedad morado canteño, procedente del Departamento de Arequipa, del cual se obtuvo el extracto concentrado de la coronta y grano del maíz, estandarizado a un pH de 3,2; en las tres repeticiones con un rendimiento de extracción del 12,5%.

Cepa de *Aspergillus flavus* sp. reactivado en agar peptona, procedente del cepario del Departamento de Microbiología, Área de Bacteriología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

Aceite esencial de clavo de olor y canela proporcionados por el Laboratorio Sensoria S.A.C.

### Obtención del extracto concentrado de maíz morado

Las mazorcas de maíz morado se obtuvieron del mercado La Hermelinda de Trujillo, seleccionándose las que no presentaron daño mecánico o biológico. El lavado de las mazorcas se realizó en agua potable con la ayuda de una escobilla para limpiar la superficie y, luego, se enjuagó con agua destilada. La mazorca fue cortada en trozos con un cuchillo de acero inoxidable estéril para facilitar el desgranado y obtención de la coronta y granos con los cuales se obtuvo el extracto, luego de llevar a ebullición 1 kg de sólidos (granos y coronta en partes iguales) en 2 L de agua destilada hasta la obtención de 750 mL de concentrado a un pH de 3.2, el que se filtró con una gasa estéril.

### Preparación del medio agar chicha de maíz morado, adición de aceites esenciales y siembra de *Aspergillus flavus*

Ciento veinte gramos de papa blanca fueron pelados, cortados en cubos pequeños y depositados en un matraz estéril de 250 mL, luego, se agregó 200 mL de extracto concentrado de maíz morado. La mezcla fue

esterilizada en autoclave a 121 °C por 15 minutos y, luego filtrada con una gasa estéril. El almidón extraído se transfirió a un matraz de 500 mL, donde se adicionó 8 g de glucosa, 6 g de agar agar y extracto concentrado de maíz morado hasta enrasar a 400 mL. El material resultante fue esterilizado en autoclave a 121 °C por 15 minutos, obteniéndose el medio agar chicha de maíz morado, que enfriado a 45 °C y separado en matraces de 100 mL, se le adicionó los aceites esenciales solos o combinados en las concentraciones de 0,05; 0,10 y 0,20%. A continuación, 20 mL del agar fueron depositados en placas de Petri, donde fue sembrada la suspensión de *Aspergillus flavus* mediante la técnica de puntura en la superficie central del medio. Las placas se incubaron a 28 °C, evaluándose el diámetro del halo de crecimiento con una regla milimétrica a las 12, 24, 36, 48, 60 y 72 horas.

### Pruebas preliminares

El rango experimental de la concentración de los aceites esenciales se determinó con pruebas preliminares a concentraciones de 0,020; 0,025; 0,050; 0,10; 0,20; 0,25; 0,50 y 1%; determinándose las concentraciones de 0,05; 0,10 y 0,20% como los niveles de la variable independiente. A concentraciones menores no se evidenció efecto fungistático y a mayores se observó efecto fungicida.

### Diseño Estadístico

Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con arreglo bifactorial, 3 tipos de esencia x 3 concentraciones, en triplicado. Se utilizó el análisis de varianza, prueba de Levene y prueba de comparación múltiple de Tamhane. El nivel de confianza considerado fue del 95% y se empleó el programa SPWA para Windows (Statistical Package for The Social Sciences), versión 18.0 (SPSS Inc., 2009).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Medición del diámetro del halo de crecimiento

En las Figuras 1, 2 y 3, se presenta el diámetro del halo de crecimiento de *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz variedad morado con aceite esencial de canela, clavo de olor y la combinación de estas. Se pudo apreciar que a mayor concentración de aceite

esencial se obtuvo un menor crecimiento de *Aspergillus flavus* durante 72 horas de incubación a 28 °C. El tiempo de incubación fue directamente proporcional al crecimiento del mohó.

Resultados similares fueron reportados en el desarrollo de *Aspergillus flavus* sobre agar malta sal, con aceite esencial de canela y orégano a las concentraciones de 0,010% y 0,025%, después de 11 días de incubación a 25 °C (García y otros, 2006). En el crecimiento micelial de *Fusarium sp.* sobre agar papa dextrosa con aceite esencial de ajo, canela, clavo, limón, menta y orégano a las concentraciones de 0,010; 0,015; 0,020; 0,025 y 0,030%, después de 8 días de incubación a 25 °C (Barrera y García, 2008). En el crecimiento de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* sobre agar papa dextrosa con aceite esencial de anís, tomillo y canela a las concentraciones de 0,0125; 0,025; 0,050 y 0,10%, después de 14 días a 28 °C (Solinam y Badea, 2002). En el crecimiento radial de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, sobre agar Sabouraud con aceite esencial de canela a las concentraciones de 0,002; 0,004 y 0,008%, después de 10 días de incubación a 25-28 °C (Santos y otros, 2008). En el crecimiento de *Aspergillus niger* y *Penicillium sp.* sobre caldo extracto de levadura sacarosa con aceite esencial de canela, clavo de olor, y su combinación a las concentraciones de 0,001–0,01%, después de 3 días de incubación a 30 °C (Matan y Matan, 2007). En la inhibición del crecimiento de *Aspergillus flavus* sobre agar papa dextrosa con extracto de clavo de olor, eucalipto y ajo a las concentraciones de 0,30; 0,40 y 0,50%, después de 6 días de incubación a 28 °C (Reddy y otros, 2009).

Los resultados de las diferentes investigaciones indican que no existe un efecto uniforme en la actividad fungistática de los aceites esenciales a una misma concentración. Esto se puede atribuir a factores propios del aceite esencial como el método de extracción y la naturaleza de la materia prima, así como, a factores externos como el microorganismo evaluado, el medio de cultivo, la temperatura y el tiempo de incubación.

Los aceites esenciales utilizados, y su combinación, tuvieron efecto fungistático sobre *Aspergillus flavus*. El aceite esencial de clavo de olor presentó los mejores resultados con una inhibición total de crecimiento, a la concentración de 0,20%; hasta las 24 horas de incubación a 28 °C, así como, una mayor inhibición del

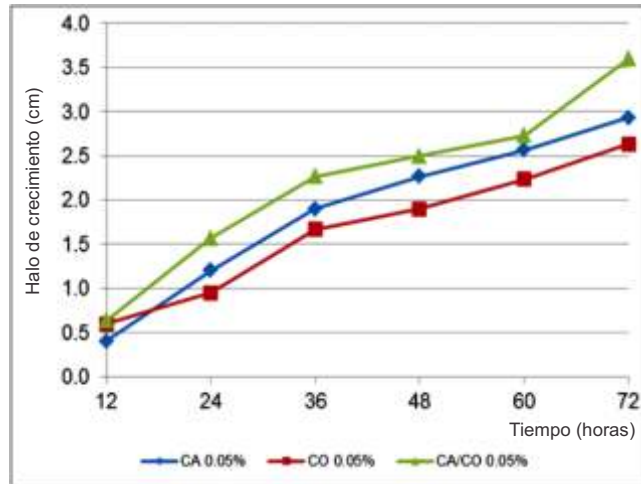


Figura 1. Diámetro del halo de crecimiento de *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz morado con aceite esencial de canela, clavo de olor y la combinación de estas al 0,05%.

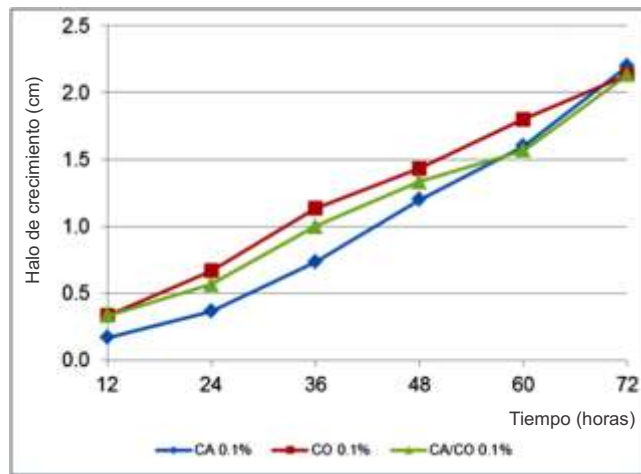


Figura 2. Diámetro del halo de crecimiento de *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz morado con aceite esencial de canela, clavo de olor y la combinación de estas al 0,1%.

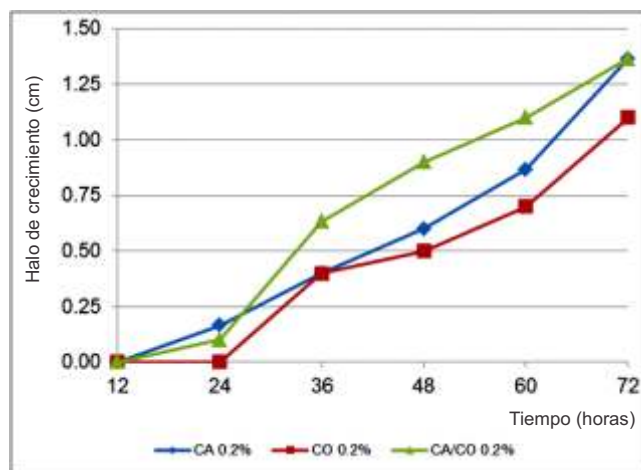


Figura 3. Diámetro del halo de crecimiento de *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz morado con aceite esencial de canela, clavo de olor y la combinación de estas al 0,2%.



crecimiento hasta las 72 horas de incubación con un diámetro del halo de crecimiento halo de 1,1 cm; en comparación, con el aceite esencial de canela y la combinación aceite esencial de canela-clavo de olor, con un halo de crecimiento de 1,4 cm; en ambos casos. Se encontró un mayor efecto fungistático individual que combinado de los aceites esenciales, presagiándose posiblemente a que existió un comportamiento antagonista.

Barrera y García (2008) reportaron que los aceites esenciales de tomillo, clavo de olor y canela presentaron los menores valores de crecimiento micelial de *Fusarium* sp. (0,0-3,6 cm de diámetro de crecimiento) sobre agar papa dextrosa durante 8 días de incubación a 25 °C, en comparación con los aceites esenciales de ajo, limón, menta y orégano; que mostraron un mayor crecimiento micelial (3,7-4,3 cm de diámetro). Así mismo, los aceites esenciales de tomillo y clavo de olor, presentaron una inhibición total del crecimiento a las concentraciones de 0,02 y 0,03%, respectivamente.

Solinam y Badeaa (2002) mencionaron que los aceites esenciales de tomillo, anís y canela a las concentraciones de 0,025; 0,050 y 0,10%, respectivamente; mostraron un total efecto inhibitorio del crecimiento de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* sobre agar papa dextrosa después de 14 días a 28 °C. Santos y otros (2008) indicaron que el aceite esencial de canela a 0,008% logró la inhibición crecimiento radial de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* sobre agar Sabouraud después de 10 días de incubación a 25-28 °C. Matan y Matan (2007) observaron la inhibición del crecimiento de *Aspergillus niger* y *Penicillium* sp. cuando se utilizó 0,0085; 0,008 y 0,006% de aceite esencial de canela, clavo de olor y su combinación, respectivamente; después de 3 días de incubación a 30 °C sobre caldo extracto de levadura sacarosa. Reddy y otros (2009) mencionaron que el extracto de clavo de olor al 0,5% en agar papa dextrosa inhibió totalmente el crecimiento de *Aspergillus flavus* después de 6 días de incubación a 28 °C. Bravo y otros (1998) indicaron que los aceites esenciales de clavo de olor, canela, tomillo y pimienta en concentraciones de 0,75-1,0% inhibieron el crecimiento de micelial de *Fusarium moniliforme*. Montes y Carvajal (1998) observaron que los aceites esenciales de clavo de olor, canela, tomillo y orégano, así como, la combinación de canela con los demás acei-

tes; a una concentración de 3-8% lograron la inhibición total de *Aspergillus flavus* en maíz después de 4 semanas de almacenamiento.

Los compuestos en extractos y aceites de especias y hierbas que tienen una alta actividad antimicrobiana son derivados simples y compuestos del fenol, volátiles a temperatura ambiente: aldehído cinámico, eugenol y linalol de la canela; el eugenol, cariofileno y humuleno del clavo de olor; y el timol del tomillo y orégano (Raybaudi-Massilia y otros, 2006). Debido a que los aceites esenciales contienen componentes de diferentes clases químicas, no es posible indicar un solo mecanismo de acción sobre los microorganismos. Un hecho común importante es la hidrofobicidad. Así, estos compuestos se sitúan dentro de las bicapas biológicas de lípidos en función de su propia lipofilia y de la fluidez de la membrana. La acumulación de compuestos lipófilos en el interior de las membranas biológicas potencia su disponibilidad para la célula y, de esta forma, puede inhibir la vitalidad celular (Shafiur, 2003).

El efecto antifúngico de los aceites esenciales se ha investigado contra especies micotoxigénicas de *Penicillium*, *Aspergillus*, y contra el deterioro de alimentos. Sin embargo, en los estudios realizados se ha logrado ver que la eficacia *in vitro* es frecuentemente mucho mayor que en los alimentos, pudiendo tener la matriz del sistema alimenticio una influencia decisiva (Shafiur, 2003; Raybaudi-Massilia y otros, 2006).

Observaciones de *Aspergillus niger* y *Aspergillus flavus* bajo la luz del microscopio a 400x de aumento, después de la exposición en aceite de canela, presentaron cambios morfológicos como una estructura micelial heterogénea, además, se observó alteraciones como disminución de la conidiación (falta de esporulación), pérdida visible del contenido citoplasmático, pérdida de pigmentación, aberrante desarrollo de hifas y fragmentación. El aceite esencial claramente causó una reducción de las cabezas conidiales, con presencia distorsionada de conidióforas (Santos y otros, 2008).

El interés de la aplicación de aceites esenciales para el control de patógenos pre y postcosecha se ha incrementado en los últimos años debido a que poseen características especiales y presentan gran potencial en la conservación de alimentos. Así tenemos, que el extracto de canela en combinación con nisina fue adicionado en jugo de manzana pasteurizado.

zado con el fin de inactivar el crecimiento de *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* O157:H7, aumentando así la seguridad del producto (Yuste y Fung, 2004). De lo anteriormente mencionado podemos denotar la importancia de esta investigación pues a partir de los resultados obtenidos se podría estudiar la aplicación de los aceites de clavo de olor y canela en concentraciones superiores al 0,2%, en chicha de maíz morado.

El análisis de varianza demostró que las variables aceite esencial, concentración, tiempo de incubación, y sus interacciones tuvieron un efecto significativo a un nivel de confianza del 95% sobre el crecimiento de *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz variedad morado (Cuadro 1).

García y otros (2006) reportaron un efecto significativo, a un nivel de confianza del 95%, del tipo de aceite esencial (canela y orégano) y su concentración sobre la actividad antifúngica en *Aspergillus flavus*, en agar malta sal, después de 11 días de incubación a 25 °C. Barrera y García (2008) encontraron

un efecto significativo, a un nivel de confianza del 99%, del tipo de aceite esencial (ajo, canela, clavo, limón, menta y orégano) y su concentración sobre el crecimiento micelial de *Fusarium sp.* sobre agar malta sal, después de 11 días de incubación a 25 °C. Santos y otros (2008) establecieron influencia significativa, a un nivel de confianza del 95%, de la concentración de aceite de canela sobre el crecimiento radial de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* sobre agar Sabouraud, después de 10 días de incubación a 25-28 °C. Reddy y otros (2009) indicaron un efecto significativo, a un nivel de confianza del 95%, del tipo de extracto (clavo de olor, eucalipto y ajo) y su concentración sobre crecimiento de *Aspergillus flavus* en agar papa dextrosa, después de 6 días de incubación a 28 °C.

Uno de los principales supuestos que debe cumplirse para aplicar un análisis de varianza es la homogeneidad de las varianzas. Para ello, debe recurrirse a pruebas estadísticas, como la Prueba de Levene, que evalúa si la media de las desviaciones es igual o no para todos los tratamientos (Montgomery, 2002).

Cuadro 1  
ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA ACCIÓN ANTIFÚNGICA EN  
*Aspergillus flavus*

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	F	p
Aceite (A)	163,420	2	81,710	8,076	0,000
Concentración (B)	5097,642	2	2548,821	251,914	0,000
Tiempo (C)	6654,568	5	1330,914	131,542	0,000
A * B	303,432	4	75,858	7,497	0,000
B * C	590,062	10	59,006	5,832	0,000
Error	1396,259	138	10,118		
Total	14205,383	161			

Cuadro 2  
PRUEBA DE LEVENE DE LA ACCIÓN ANTIFÚNGICA EN  
*Aspergillus flavus*

Variable	F	Contraste de Levene		p
		Grados de libertad 1	Grados de libertad 2	
Aceite esencial	0,630	2	159	0,534
Concentración	15,688	2	159	0,000
Tiempo	4,574	5	156	0,001

**Cuadro 3**  
**PRUEBA DE COMPARACIÓN MÚLTIPLE DE THAMANE DE**  
**LA ACCIÓN ANTIFÚNGICA EN *Aspergillus flavus***

	<b>Tratamientos</b>	<b>Diferencia</b>	<b>Error típico</b>	<b>p</b>
Canela 0,05%	Canela 0,10%	0,81	0,29	0,25
	Canela 0,20%	1,27	0,26	0,00
	Clavo de olor 0,05%	0,19	0,29	1,00
	Clavo de olor 0,10%	0,60	0,28	0,75
	Clavo de olor 0,20%	1,40	0,25	0,00
	Canela-clavo de olor 0,05%	-0,40	0,34	1,00
	Canela-clavo de olor 0,10%	0,69	0,27	0,45
	Canela-clavo de olor 0,20%	1,18	0,26	0,00
Canela 0,1%	Canela 0,20%	0,46	0,22	0,79
	Clavo de olor 0,05%	-0,62	0,25	0,51
	Clavo de olor 0,10%	-0,21	0,24	1,00
	Clavo de olor 0,20%	0,59	0,20	0,24
	Canela-clavo de olor 0,05%	-1,21	0,31	0,02
	Canela-clavo de olor 0,10%	-0,12	0,23	1,00
	Canela-clavo de olor 0,20%	0,37	0,22	0,98
Canela 0,2%	Clavo de olor 0,05%	-1,08	0,22	0,00
	Clavo de olor 0,10%	-0,67	0,20	0,09
	Clavo de olor 0,20%	0,13	0,16	1,00
	Canela-clavo de olor 0,05%	-1,67	0,29	0,00
	Canela-clavo de olor 0,10%	-0,58	0,20	0,22
	Canela-clavo de olor 0,20%	-0,09	0,18	1,00
Clavo de olor 0,05%	Clavo de olor 0,10%	0,41	0,24	0,98
	Clavo de olor 0,20%	1,21	0,21	0,00
	Canela-clavo de olor 0,05%	-0,59	0,31	0,93
	Canela-clavo de olor 0,10%	0,51	0,24	0,78
	Canela-clavo de olor 0,20%	0,99	0,22	0,00
Clavo de olor 0,1%	Clavo de olor 0,20%	0,80	0,19	0,01
	Canela-clavo de olor 0,05%	-1,00	0,30	0,09
	Canela-clavo de olor 0,10%	0,09	0,22	1,00
	Canela-clavo de olor 0,20%	0,58	0,20	0,24
Clavo de olor 0,2%	Canela-clavo de olor 0,05%	-1,80	0,28	0,00
	Canela-clavo de olor 0,10%	-0,71	0,19	0,02
	Canela-clavo de olor 0,20%	-0,22	0,16	1,00
Canela-clavo de olor 0,05%	Canela-clavo de olor 0,10%	1,09	0,30	0,04
	Canela-clavo de olor 0,20%	1,58	0,28	0,00
Canela-clavo de olor 0,1%	Canela-clavo de olor 0,20%	0,48	0,20	0,53



En el Cuadro 2 se presenta la prueba de Levene de la acción antifúngica en *Aspergillus flavus*, en el que, se observa que solamente existe homogeneidad de varianzas de la variable independiente aceite esencial ( $p > 0,05$ ), más no de la concentración y tiempo de incubación sobre la acción antifúngica en *Aspergillus flavus*, razón por la cual fue necesario recurrir a la prueba de comparaciones múltiples de Thamane.

En el Cuadro 3, se presenta la prueba de comparación múltiple de Thamane aplicada a la acción antifúngica en *Aspergillus flavus*. En esta prueba se compara la existencia de diferencia significativa del tratamiento que presentó la mayor acción antifúngica con los demás tratamientos. No existió diferencia estadística entre el tratamiento esencia de clavo de olor - concentración 0,20%, que obtuvo el mayor efecto fungistático hasta las 72 horas de incubación a 28 °C con diámetro del halo de crecimiento de 1,1 cm, en comparación con los tratamientos aceite esencial de canela- concentración 0,20% y la combinación aceite esencial de canela y clavo de olor - concentración 0,20%, que mostraron un diámetro del halo de crecimiento de 1,4 cm, en ambos casos. Consecuentemente, se puede indicar que estadísticamente la aplicación del aceite esencial de clavo de olor, canela y su combinación a 0,20%, obtuvieron la misma acción fungistática en *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz morado.

## CONCLUSIONES

- Existió un efecto significativo del aceite esencial de clavo de olor, canela y su combinación a diferentes concentraciones sobre la acción antifúngica de *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz variedad morado durante 72 horas a 28 °C.
- El aceite esencial de clavo de olor al 0,20% produjo la mayor acción antifúngica sobre *Aspergillus flavus* en agar chicha de maíz variedad morado durante 72 horas a 28 °C, el cual fue estadísticamente igual a la acción del aceite esencial de canela y la combinación del aceite esencial de canela - aceite esencial de clavo de olor al 0,20%.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Albo G. (2001). Ensayos de campo para evaluar la efectividad de algunos aceites esenciales. Ed. Vida Apícola - Argentina.
- Anguiano G, Vever A, Vargas C, Guzmán D, Peña D. (2005). Inactivación de aflatoxina B<sub>1</sub> y aflatoxicol por nixtamalización tradicional del maíz y su generación por acidificación de la masa. Centro de investigación y de estudios del Instituto Politécnico Nacional de México.
- Barrera L, García L. (2008). Actividad antifúngica de aceites esenciales y sus compuestos sobre el crecimiento de *Fusarium* sp. aislado de papaya (*Carica papaya*). Revista científica UDO agrícola 8 (1): 33-41
- Barreto J. (2003). Respuesta del *Aspergillus flavus* a mezclas de extracto de canela y benzoato de sodio. Universidad de las Américas de Puebla - México.
- Bravo L, Bermúdez K, Montes R. (1998). Growth mycelial inhibition and sporulation of *Fusarium moniliforme* shield by plant essential oils and some their chemical components. Mexican journal of phytopathology 16(1):18.
- Campomanes J. (2003). Evaluación del efecto de mezclas ternarias y cuaternarias de antimicrobianos sobre *Aspergillus parasiticus*. Universidad de las Américas de Puebla - México.
- Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. (2007). Actividad Antimicrobica *in vitro* y Metabolitos del Aceite esencial de las hojas de *Mintostachys mollis* (Muña). Instituto nacional de salud. Revista peruana de medicina experimental y salud pública. Volumen 25.
- Carhuapoma M, López S, Roque M, Velapatño B, Whu C. (2009). Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Mintostachys mollis* griseb "Ruyaq muña". Universidad Mayor de San Marcos.
- García E, Quezada M, Moreno J, Sánchez G, Moreno E, Pérez M. (2006). Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y orégano (*Origanum vulgare* L.) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. Revista Mexicana de Fitopatología 24: 8-12.
- Gonzales G, Gardea A, Cuamea F. (2005). Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. Centro de investigación en alimentación y desarrollo (CIAD, A.C.) - México.
- López-Malo A, Alzamora S, Palou E. (2005). *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. International Journal of Food Microbiology 99 (2005) 119-128.
- Matan N, Matan N. (2007). Effect of cinnamon and clove oil against major moulds identified from Rubberwood (*Hevea brasiliensis*). Walailak Journal Science and Technology 4(2): 165-174, Thailand.
- Montes R, Cruz V, Martínez G, Sandoval G, García R, Zilch S, Luna B, Bermúdez K, Flores H, Carvajal M. (2000). Propiedades antifúngica en plantas superiores. Análisis de investigaciones del Instituto Politécnico Nacional. Universidad Autónoma de México. Revista Mexicana de Fitopatología 18.
- Montes R, Flores M. (2001). Combate de *Fusarium thapsinum* y *claviceps* africana mediante semillas de sorgo tratadas con productos naturales. Revista manejo integral de plagas 61: 23-30.
- Montes R, Carvajal M. (1998). Control de *Aspergillus flavus* in maize with plant essential oils and their components. Journal of Food Protections 61 (5): 616-619.

- Montgomery D. (2002). Diseño y análisis de experimentos. 2da edición. Editorial Limusa S.A. México.
- Raybaudi-Massilia R, Soliva R, Martín O. (2006). Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. I Simposio Iberoamericano de vegetales frescos cortados, Sao Paulo, Brasil.
- Reddy K, Reddy C, Muralidharan K. (2009). Potential of botanicals and biocontrol agents on growth and aflatoxin production by *Aspergillus Flavus* infecting rice grains. Doi:10.1016/j.foodcont.2008.03.009.
- Robledo M, Marín S, Ramos A. (2001). Contaminación Natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el estado de Nayarit. Universidad Autónoma de México.
- Santos E, De Oliveira E, Leite E, Barbosa F. (2008). Effect of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil on the growth and morphogenesis of some potentially pathogenic *Aspergillus* species. Brazilian journal of microbiology 39: 91-97.
- Shafiq M. (2003). Manual de conservación de alimentos. 1era Edición. Editorial Acirbia, Zaragoza - España.
- Soliman K, Badaea R. (2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. Food and chemical toxicology 40: 1669- 1675.
- Statistical Package for The Social Sciences. (2009). version 18.0 (SPSS Inc.).
- Yuste J, Fung D. (2004). Inactivation of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice by a combination of nisin and cinnamon. Journal food protection 67(2): 371-7.