

ACEITES ESENCIALES Y EXTRACTOS VEGETALES EN EL CONTROL DEL BIODETERIORO DEL PATRIMONIO DOCUMENTAL ARGENTINO Y CUBANO

GÓMEZ de SARAVIA Sandra G.^{1,2}, BORREGO Sofía³, LAVIN Paola^{1,4}, VALDÉS Oderlaise³, BATTISTONI Patricia^{1,4}, GUIAMET Patricia^{1,4,5}

¹Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, CCT La Plata-CONICET. C.C. 16, Suc.4, (1900), La Plata. Tel: 54-221-4257430, Fax: 54-221-4254642. ²Facultad de Ciencias Naturales y Museo UNLP-CICBA, sgomez@inifta.unlp.edu.ar, ³Laboratorio de Conservación Preventiva. Archivo Nacional de la República de Cuba, ⁴CONICET, ⁵Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP-CONICET.

RESUMEN

Los documentos en soporte papel son vulnerables al daño provocado no sólo por la temperatura elevada y el exceso de humedad y luz, sino también por el biodeterioro. El biodeterioro es causado por los microorganismos como consecuencia de la formación de biofilms y de la utilización del papel como fuente de carbono y energía. En las bibliotecas y los archivos se han usado tradicionalmente sustancias químicas para la prevención del biodeterioro. Los aceites esenciales y extractos vegetales (biocidas naturales) son una opción para la preservación del patrimonio, porque son amigables para el ambiente. El objetivo de este trabajo fue estudiar el control y prevención del biodeterioro de documentos almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata, en el Departamento de Investigación Histórica y Cartográfica de la Dirección de Geodesia del Ministerio de Obras Públicas de la Provincia de Buenos Aires y en el Archivo Nacional de la República de Cuba, empleando biocidas naturales. La actividad biocida se analizó frente a cepas de bacterias y hongos aisladas de diferentes documentos. Se detectó actividad positiva en la mayor parte de los biocidas ensayados.

1. INTRODUCCION

El acervo documental, custodiado en archivos y museos, está expuesto a sufrir alteraciones físicas, químicas y/o biológicas. En la colonización y degradación del papel, interactúan diferentes poblaciones microbianas, bacterias, hongos y actinomicetes. Hongos y bacterias utilizan el papel como fuente nutricional, haciendo uso de sus complejos sistemas enzimáticos (glucanasas y proteasas), ayudados por las condiciones micro y macro climáticas del ambiente [1].

Entre las plagas que amenazan a diario las bibliotecas y las colecciones de archivos, la presencia de hongos es, sin duda, una de las más importantes [2, 3, 4]. Sin embargo entre las bacterias, *Bacillus* sp., puede atacar la celulosa, el pergamino y las colas, provocando el deterioro de los documentos debido a la producción de amilasas, celulasas, N-acetil β-glucosaminidasa, ácido láctico y fosfatasa ácida, que causan descenso de pH y originan manchas violáceas o rojizas y resquebrajan el papel [5, 6].

El daño del material documental es el resultado de la capacidad de adhesión que presentan los microorganismos formando biofilms o consorcios, que potencian el deterioro de la documentación.

Los métodos empleados para prevenir el biodeterioro deben considerar la inhibición del crecimiento de los organismos o de la actividad metabólica de los mismos y la modificación de las características del ambiente donde se desarrolla el proceso de biodeterioro [7]. Desde la antigüedad, extractos vegetales y aceites volátiles de hierbas, especies y plantas han sido reconocidos por su actividad antimicrobiana [8, 9, 10].

En los últimos años, se ha renovado el interés de los científicos por el uso de estas sustancias naturales por sus propiedades antibacteriana y antifúngicas. Sin embargo, entre los estudios realizados, sólo unos pocos mencionan su eventual uso en el campo de la conservación de los bienes culturales [11, 12, 13, 14, 15, 16, 17].

El objetivo de este trabajo fue estudiar el control y prevención del biodeterioro de documentos almacenados en el Archivo Histórico del Museo de La Plata (AHMP), en el Departamento de Investigación Histórica y Cartográfica de la Dirección de Geodesia del Ministerio de Obras Públicas de la Provincia de Buenos Aires (ADIHC) y en el Archivo Nacional de la República de Cuba (ARNAC) empleando aceites esenciales y extractos vegetales.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal. Obtención de los aceites esenciales y extractos vegetales.

Se utilizaron las siguientes plantas: *Allium sativum* L. (ajo); *Arctium lappa* L. (bardana); *Centaurea cyanus* L. (centaurea); *Citrus sinensis* Osbeck. (naranja); *Citrus limon* (L.) Burm (limón); *Cuminum cyminum* L. (comino); *Eucalyptus citriodora* Hook (eucalipto); *Laurus nobilis* L. (laurel); *Medicago sativa* L. (alfalfa); *Myristica fragans* Out. (nuez moscada); *Origanum vulgare* L. (orégano); *Pimpinella anisum* L. (anís); *Pinus caribaea* Mor. (pino macho); *Syzygium aromaticum* L. (clavo de olor) y *Thymus vulgaris* L. (tomillo) cosechadas de su hábitat natural. Estas plantas fueron seleccionadas por su actividad antimicrobiana informada en la literatura [18, 19]. Las plantas se secaron en estufa a 60° C durante 24h y se almacenaron a temperatura ambiente hasta su posterior macerado, se procedió según Guiamet et al., 2006 [20]. Para la obtención de los extractos y aceites se emplearon las partes aéreas de la planta. Los aceites esenciales se extrajeron del material vegetal por hidrodestilación empleando un equipo de destilación tipo *Clevenger*.

2.2 Toma de muestras, aislamiento e identificación de los microorganismos

Las experiencias se llevaron a cabo con cepas de bacterias y hongos aisladas de soportes documentales de los depósitos del AHMP, del ADIHC y del ARNAC. Las cepas bacterianas utilizadas fueron: *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus sp.*, *Enterobacter agglomerans*, *Streptomyces sp.* y los hongos: *Aspergillus niger*, *Aspergillus clavatus*, *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.*

Las muestras se tomaron con hisopos estériles de las superficies de los documentos. Posteriormente, fueron homogeneizadas en 10 mL de solución fisiológica salina estéril, y se sembraron en cápsulas de Petri a través de la técnica de recuento en placa o recuento de colonias [21], en diferentes medios de cultivo [14]. El tiempo de incubación, para ambos casos, fue de 48-72 h para bacterias y una semana para hongos. La temperatura de incubación fue de 28°C.

2.3 Ensayo "in vitro" de actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y extractos vegetales se evaluó mediante la técnica de los hoyos [22]. Las suspensiones de las cepas bacterianas utilizadas fueron ajustadas al tubo 3 de la escala de McFarland (9×10^8 UFC/mL) y las placas de Petri con agar nutritivo fueron inoculadas con dicha concentración [23]. Para los hongos, la suspensión de conidias se ajustó a 10^6 conidias/mL con una cámara de Neubauer [24, 25]. A los hoyos de 5 milímetros de diámetro, se les adicionaron 10 μ L del extracto vegetal o del aceite esencial. Los aceites esenciales se probaron puros y diluidos con etanol al 50% y 25%. Fueron utilizados como controles etanol al 70% y sulfato de gentamicina 40 mg/mL (IMEFA, Cuba).

Para las bacterias, las cápsulas se incubaron a 28 ° C durante 24 h y para los hongos a 28 ° C durante 5 días. Luego se midieron los halos de inhibición en milímetros. El rango establecido para determinar la susceptibilidad al aceite esencial y al extracto se analizó en función del diámetro del halo (d): $d < 6$ mm es indicativo de la actividad negativa, $d = 6-9$ mm indica una actividad moderada, $d > 9$ mm indica una actividad positiva. Los ensayos se realizaron por triplicado.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La actividad de los aceites esenciales y extractos vegetales varió según el microorganismo ensayado (Tablas 1 y 2).

En la literatura se ha indicado que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales y extractos vegetales es debida a diferentes metabolitos secundarios presentes en ellos incluyendo: triterpenoides, flavonoides, fenoles, alcaloides, cumarinas, taninos y esteroides [26, 27, 28, 29, 30, 31], algunos de los cuales están presentes en las soluciones evaluadas y el efecto antimicrobiano sobre las cepas ensayadas les sería atribuible [31].

Eucalyptus citriodora Hook y *Pinus caribaea* Mor. son plantas ampliamente estudiadas debido, en gran medida, a su uso tradicional en medicina y por su actividad antibacteriana y antifúngica [32]. Se atribuye la actividad antimicrobiana del género *Eucalyptus* a la presencia de taninos, eucaliptol y terpenos en sus hojas. Los estudios realizados utilizando *Eucalyptus citriodora* Hook y *Pinus caribaea* Mor. para prevenir el biodeterioro de papeles sometidos a envejecimiento artificial [15, 16, 17], demostraron

que no hubo cambios en la apariencia de los mismos, ya que la acidez de los papeles no presentó variaciones.

La actividad antimicrobiana del aceite de *Pimpinella anisum* L. fue negativa frente a las bacterias ensayadas (Tabla 1). Resultados similares fueron obtenidos por Kivanç y Akgül (1986) [33] y Chaudry y Tariq (2006) [34]. Este comportamiento puede deberse a un problema de solubilidad del aceite, debido a que la diferente susceptibilidad de las bacterias a las sustancias puede deberse a variaciones en la estructura de la pared celular, los lípidos y la composición de proteínas de la membrana citoplasmática [9].

El aceite de *Pimpinella anisum* L. mostró una actividad positiva frente a los hongos analizados (Tabla 2),

La actividad antibacteriana y antifúngica, del aceite de *Syzygium aromaticum* L. fue variable. La mayoría de las bacterias Gram + fueron sensibles a este aceite, sin embargo *Enterobacter agglomerans* (Gram -) fue resistente. Resultados similares fueron reportados por diferentes autores en la conservación del patrimonio documental [12, 13].

Una actividad antibacteriana muy baja se obtuvo con el aceite de *Cuminum cyminum* L., contrariamente a lo reportado por otros autores [34, 35].

La actividad antibacteriana de *Allium sativum* L. fue muy variable entre las bacterias Gram +. Frente a *Bacillus cereus* y *Bacillus thuringiensis* fue significativamente menos eficaz que para *Bacillus sp.* y *Bacillus polymixa*. Esta variabilidad podría deberse a la resistencia que poseen las bacterias esporuladas [36]. Sin embargo, en comparación con *Streptomyces sp.* la actividad fue positiva. La actividad antifúngica también fue positiva. La actividad biocida probablemente es debida a la alicina y el ajoeno, son sustancias que inhiben la actividad de las enzimas tales como colinesterasa, ureasa, etc. [37].

El efecto antimicrobiano de *Arctium lappa* L. es atribuido a una lactona sesquiterpénica presente en las partes aéreas de las plantas [38]

El aceite esencial de *Laurus nobilis* L. mostró una baja actividad frente a bacterias y hongos. Sin embargo, la concentración máxima estudiada (Tabla 2) sólo inhibió la formación de conidias de las cepas de *Aspergillus*.

Para el aceite de *Origanum vulgare* L., no se obtuvieron diferencias significativas entre las cepas de bacterias Gram + y Gram - analizadas. Esto podría deberse a la presencia de timol, que puede actuar sobre las membranas celulares [23]. Sin embargo, para los hongos, fue efectivo e inhibió la formación de conidias de todas las cepas estudiadas.

El aceite de *Thymus vulgaris* L. mostró una marcada actividad en las cepas bacterianas ensayadas, siendo de mayor actividad al 25%. Rassoli et al. (2006) obtuvieron resultados positivos con *Aspergillus niger* [39].

CONCLUSIONES

Se observó un efecto biocida en la mayoría de los extractos y aceites esenciales ensayados frente a cepas de bacterias y hongos aisladas de documentos pertenecientes al patrimonio documental argentino y cubano.

A pesar que los hongos son generalmente más resistentes a los antimicrobianos, los aceites esenciales fueron efectivos frente a los hongos ensayados.

De los resultados obtenidos se deduce el uso prometedor de biocidas naturales en el control de microorganismos asociados al biodeterioro del patrimonio documental.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras argentinas agradecen los subsidios recibidos UNLP (11 N 578 y 11X 560), CONICET (PIP0200) y CICBA (1535/10). Las autoras cubanas agradecen al Programa de Ayuda al Desarrollo de Archivos de Ibero América (ADAI 140/2008 y 116/2009). Autoras argentinas y cubanas agradecen al Proyecto de colaboración CITMA –MENCYT (Cu/09/09).

REFERENCIAS

- [1] Villalba, L. S., Milkán, J. F., Sánchez, J. (2004), "Actividades hidrolíticas y caracterización isoenzimática de poblaciones microbianas aisladas del patrimonio documental del Archivo General de Colombia", *NOVA* Vol. 2, No 2, pp. 50-57.
- [2] Florian, M. L. E. (2004), "Fungal facts. Solving fungal problems in heritage collections" Archetype Publications Ltd., London, UK.
- [3] Michaelsen, A., Piñar, G., Pinzari, F. (2010), "Molecular and microscopical investigation on the microflora inhabiting a deteriorated Italian manuscript date from the thirteen century". *Microbial Ecology* Vol. 60, pp. 69-80.
- [4] Borrego, S., Guiamet, P., Gómez de Saravia, S., Battistoni, P., Garcia, M., Lavin, P., Perdomo, I. (2010), "The quality of air at archives and the biodeterioration of photographs". *International Biodeterioration & Biodegradation* Vol. 64, pp. 139-145.
- [5] Kraemer, G. (1973), "Tratado de la previsión del papel y de la conservación de bibliotecas y archivos". *Dirección General de Archivos y Bibliotecas*: Madrid, pp. 1001 – 1022.
- [6] Vaillant Callol, M., Doménech Carbó, M. T., Valentín, R. N. (2003), "Una mirada hacia la conservación preventiva del patrimonio cultural". Universidad Politécnica de Valencia, Servicio de Publicaciones España, pp. 322.
- [7] Martínez Outeriño, P. (2003), "Manejo integrado contra plagas. I Jornadas Iberoamericanas sobre Biodeterioro del Patrimonio Cultural Iberoamericano. Prevención Restauración y Preservación. Cartagena de Indias, Colombia, 1 al 5 de septiembre de 2003, 15 pp.
- [8] Friedman, M., Henika, P. R., Mandrell, R. E. (2002), "Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*". *Journal of Food Protection* Vol. 65, pp. 1545-1560.
- [9] Reichling, J., Suschke, U., Schneelee, J., Geiss, H. K. (2006), "Antibacterial activity and irritation potential of selected essential oil components – Structure – Activity relationship". *Natural Product Communications* Vol. 0, pp. 1-10.
- [10] Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., Bourke, P. (2008), "The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients". *International Journal of Food Microbiology* Vol. 124, pp. 91-97.
- [11] Gatenaby, S., Townley, P. (2003), "Preliminary research into the use of the essential oil of *Melaleuca artemifolia* (tea tree oil) in museum conservation". *AICCM Bulletin* Vol. 28, pp. 67-70.

- [12] Cheng, Y. J., Lee, K. S., Han, S. H. (2003), "The utilization of fungicide and insecticide from medicinal plants for conservation of cultural properties". 5th Meeting of the Indoor Air Pollution Working Group. April 28-29, University of East Anglia, School of Environmental Sciences Norwich.
http://iaq.dk/iaq/iaq2003/2003_17_2.htm.
- [13] Rakotonirainy, M. S., Lavédrine, B. (2005), "Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas", *International Biodeterioration & Biodegradation* Vol. 55, pp. 141-147.
- [14] Guiamet P. S., de la Paz Naranjo J., Arenas P. M., Gómez de Saravia, S. G. (2008), "Differential sensitivity of *Bacillus* sp. isolated from archive materials to plant extracts", *Pharmacologyonline* Vol. 3, pp. 649-658.
- [15] de la Paz, J., Larinova, M., Arenas, P., Battistoni, P., Perez M., Guiamet, P., Gómez de Saravia S. G. (2009a), "Evaluación fotoquímica de extractos naturales de *Eucalyptus citriodora* y *Pinus caribaea* con actividad biocida", *Industria & Química* Vol. 359, pp. 16-18.
- [16] de la Paz Naranjo, J., Guiamet, P., Gómez de Saravia, S. G. (2009b), "Evaluación fotoquímica de extractos vegetales con potencial biocida en el control del biodeterioro en archivos", *BLACPMA* Vol. 8, No 5, pp. 445-448.
- [17] Gómez de Saravia, S.G., de la Paz J., Lavin P., Battistoni, P., Guiamet, P. (2011), "Control y prevención del biodeterioro del papel utilizando extractos naturales". En: *La Arqueometría en Argentina y Latinoamericana*" Edit. De la Facultad de Filosofía y Humanidades (EdiFFyH). Universidad Nacional de Córdoba. (ISBN 978-950-33-0849-3)
- [18] Masood, A., Syed Asgha, H., Mohammad, Z., Abdur, R. (2004), "Effect of different sowing season and row spacing on seed production of fennel (*Foeniculum vulgare*)", *Journal of Biological Science* Vol. 7, pp. 1144-1147.
- [19] Cowan, M.M. (1999), "Plant products as antimicrobial agents". *Clinical Microbiology Reviews* Vol.12, pp. 564 - 82.
- [20] Guiamet P. S., Gómez de Saravia S., Arenas P., Pérez, M. L., de la Paz J., Borrego S. F. (2006), "Natural products isolated from plants used in biodeterioration control", *Pharmacologyonline* Vol. 3, pp. 534-544.
- [21] Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap P., Clark, D. (2009), Brock, *Biology of microorganisms*, 12^a ed. Benjamin Cummings, 1168 pp.
- [22] Trivedi, N. A., Hotchandani, S. C. (2004), "Study of the antimicrobial activity of oil of *Eucalyptus*", *Indian Journal of Pharmacology* Vol 36, No 2, pp. 93 – 94.
- [23] Sartoratto, A., Machado, A. L. M., Delarmelina, C., Figueira, G. M., Duarte, M. C. T., Rehder, V. L. G. (2004), "Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil", *Brazilian Journal of Microbiology* Vol. 35, pp. 275-280.
- [24] Aberkane, A., Cuenca-Estrella, M., Gomez-Lopez, A., Petrikkou, E., Mellado, E., Monzón, A., Rodríguez-Tudela, J.L. (2002), "Comparative evaluation of two different methods of inoculum preparation for antifungal susceptibility testing of filamentous fungi", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Vol. 50, pp. 719-722.
- [25] Araujo, R., Rodrigues, A. G., Pina-Vaz, C. (2004), "A fast, practical and reproducible procedure for the standardization of the cell density of an *Aspergillus* suspension", *Journal of Medical Microbiology* Vol. 53, pp. 783-786.
- [26] Cottiglia, F., Loy, G., Garau, D., Floris, C., Casu, M., Pompei, R., Bonsignore, L. (2001), "Antimicrobial evaluation of coumarins and flavonoids from the stems of *Daphne gnidium* L.", *Phytomedicine*. Vol. 8, No. 4, pp. 302-305.
- [27] Wanjala C.C., Juma B. F., Bojase G., Gashe B. A., Majinda R. R. (2002), "Erythraline alkaloids and antimicrobial flavonoids from *Erythrina latissima*", *Planta Medica* Jul, Vol. 68, No.7, pp. 640-642.
- [28] Takahashi T., Kokubo R., Sakaino M. (2004), "Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculate*, *Letters in Applied Microbiology* Vol. 39, No. 1, pp. 60-64.
- [29] Mesa, A. C., Bueno, J. G., Betancur, L. A. (2004), "Productos naturales con actividad antimicótico". *Revista Española de Quimioterapia* Vol. 17, No. 4, pp. 325 – 331.
- [30] Kiskó, G., Roller, S. (2005), "Carvacrol and *p*-cymene inactivate *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice", *BMC Microbiology* Vol. 5, pp. 36.
- [31] Guiamet, P., Lavin, P., Battistoni, P., Gómez de Saravia, S.G., García, M., Vivar, I., Tiommo, O., Tacoronte, J.E., Borrego, S. (2009), "Fitocomposición de aceites esenciales de plantas y su actividad

- biocida contra microorganismos que afectan el patrimonio cultural argentino y cubano". XVII Simposio Nacional de Química Orgánica, 15-18 de noviembre de 2009, Mendoza, Argentina. pp. 55.
- [32] Hesamedin Ramezani, Singh, H. P., Batish, D. R., Kohli, R. K. (2002), "Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*", *Fitoterapia*, Vol. 73, No. 3, pp. 261-262.
- [33] Kivanç, M., Akgül, A. (1986), "Antibacterial activities of essential oils from Turkish spices and citrus", *Flavour and Fragrance Journal* Vol. 1, pp. 175-179.
- [34] Chaudhry, N. M., Tariq, P. (2006), "Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates", *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* Vol. 19, pp. 214-218. 33]
- [35] Derakhshan, S., Sattari, M., Bigdeli, M. (2010), "Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid Integrity of *Klebsiella pneumoniae*", *Pharmacognosy Magazine* Vol. 6, pp. 57-61.
- [36] Jigna P., Rathish, N., Sumitra, C. (2005), "Preliminary screening of some folklore medicinal plants from western India for potential antimicrobial activity", *Indian Journal of Pharmacology* Vol. 37, No. 6, pp. 408-409.
- [37] Davidson, P. M., Parish, M. E. (1989), "Methods for testing the efficacy of food antimicrobials", *Food Technology* Vol. 43, pp. 148-155.
- [38] Lima D., João L. Veiga M.C., Guimarães A., Gama M.L. (1993), "Antimicrobial activity plants *Porophyllum ruderale*, *Arctium lappa* and *Plantago major*", *Folha médica* Vol. 106, No. 3, pp. 59-62.
- [39] Rassoli, I., Rezaei, M. B., Allameh, A. (2006), "Growth inhibition and morphological alterations of *Aspergillus niger* by essential oils from *Thymus ericalyx* and *Thymus x-porlock*.", *Food Control* Vol. 17, pp. 359-364.

Tabla 1. Diámetros de los halos de inhibición obtenidos en mm para bacterias

		<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bacillus polimixia</i>	<i>Enterobacter agglomerans</i>	<i>Streptomyces sp.</i>
<i>Allium sativum</i> L.	AE	4	6	0	NE	NE	NE
	50%	5	4	NE	14	>30	>30
	25%	3	4	NE	11	>30	>30
<i>Arctium lappa</i> L.	70%	NE	3	10	NE	NE	NE
	99%	NE	12	8	NE	NE	NE
<i>Centaurea cyanus</i> L.	70%	NE	0	0	NE	NE	NE
	99%	NE	4	6	NE	NE	NE
<i>Citrus sinensis</i> Osbeck	AE	0	0	0	NE	NE	NE
	50%	0	4	3	5	5	8
	25%	0	3	6	4	5	4
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.	Puro	NE	NE	NE	5	0	11
	50%	NE	NE	NE	13	0	13
	25%	NE	NE	NE	12	0	13
<i>Cuminum cyminum</i> L.	AE	NE	NE	NE	5	8	10
	50%	NE	NE	NE	5	4	6
	25%	NE	NE	NE	5	3	5
<i>Eucalyptus citriodora</i> Hook.	AE	8	11	9	NE	NE	NE
<i>Laurus nobilis</i> L.	AE	6	8	NE	NE	NE	NE
	50%	3	3	NE	4	2	4
	25%	3	4	NE	4	2	4
<i>Medicago sativa</i> L.	70%	NE	0	2	NE	NE	NE
	99%	NE	0	0	NE	NE	NE
<i>Myristica fragans</i> Out.	AE	NE	NE	NE	3	5	6
	50%	NE	NE	NE	2	2	4
	25%	NE	NE	NE	1	2	4
<i>Origanum vulgare</i> L.	AE	17	17	NE	11	15	19
	50%	21	19	NE	11	11	14
	25%	>30	>30	NE	10	10	11
<i>Pimpinella anisum</i> L.	AE	0	0	0	NE	NE	NE
	50%	0	0	0	2	4	5
	25%	0	0	0	5	6	7
<i>Pinnus caribaea</i> Morelet	ext	NE	9	6	NE	NE	NE
<i>Syzygium aromaticum</i> L.	AE	10	8	10		10	
	50%	9	9	9	10	7	11
	25%	13	14	14	10	7	12
<i>Thymus vulgaris</i> L.	AE	16	13	26	NE	NE	NE
	50%	21	19	25	NE	NE	NE
	25%	27	26	>30	NE	NE	NE
Etanol	70%	0	0	0	0	0	0
Sulfato de gentamicina	40mg/mL	0	0	0	0	0	0

AE: aceite esencial puro.

70% y 99%: extractos etanólicos.

Tabla 2 Diámetros de los halos de inhibición obtenidos en mm para hongos

		<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus clavatus</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
<i>Allium sativum</i> L.	50%	>40	>40	>40	>40
	25%	>40	>40	>40	>40
	7.5%	>40	>40	>40	>40
<i>Citrus limon</i> (L.) Burm.	AE	IE	IE	IE	IE
	50%	IE	IE	IE	IE
	25%	IE	IE	IE	IE
<i>Citrus sinensis</i> Osbeck	AE	IE	IE	IE	IE
	50%	IE	IE	IE	IE
	25%	IE	IE	IE	IE
<i>Coriandrum sativum</i> L.	AE	2	2	4	5
	50%	2	0	IE	3
	25%	IE	0	0	0
<i>Cuminum cyminum</i> L.	AE	17	20	20	19
	50%	15	18	10	15
	25%	0	17	4	5
<i>Laurus nobilis</i> L.	50%	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0
	7.5%	0	0	0	0
<i>Myristica fragans</i> Out.	AE	3	6	4	2
	50%	2	1	2	0
	25%	1	0	0	0
<i>Origanum vulgare</i> L.	50%	20*	25*	30*	25*
	25%	15*	15*	15*	15*
	7.5%	5	8	9	9
<i>Pimpinella anisum</i> L.	50%	>40	>40	>40	>40
	25%	>40	>40	>40	>40
	7.5%	>40	>40	>40	>40
<i>Syzygium aromaticum</i> L.	50%	15*	13*	15*	20*
	25%	15*	7*	6*	15*
	7.5%	4	6	5	8
Sulfato de gentamicina 40 mg/mL	0	0	0	0	

AE: aceite esencial

* : Indica que también afecta la esporulación fúngica en la zona próxima al aceite esencial.

IE: inhibición de la esporulación.