

Artículo Original

Efecto bactericida y fungicida de una formulación de anillo cimenol-ácido cítrico sobre maíz para pienso experimentalmente contaminado

Bactericidal and fungicidal effect of cimenol ring-citric acid formulation on experimentally feed-maize contaminated

Hugo Patiño-López¹, Zoila-Mirella Clavo², Norma Ramos-Cevallos³, Miguel Quispe⁴, José-Luis Rodríguez⁵, Mariella Ramos-Gonzalez⁶

Recibido: 04/04/2022 Aceptado: 30/06/2022 Publicado: 31/08/2022

Resumen

El uso indiscriminado de antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos o antivíricos), utilizados de manera profiláctica en el pienso o de forma terapéutica en la industria avícola, ha generado la creciente preocupación por la resistencia antimicrobiana de muchos microorganismos poniendo en peligro la eficacia en la prevención y el tratamiento de ciertas infecciones. Por ello, varias industrias de producción, incluyendo la industria avícola, están optando por sustituir estos antimicrobianos comerciales por agentes antimicrobianos naturales que provienen de plantas medicinales, evaluando los efectos de sus extractos o metabolitos secundarios. Por ello el estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana (bactericida y antimicótica) de una formulación natural de anillo cimenol-ácido cítrico (ACAC) frente a maíz amarillo duro experimentalmente contaminado con *Pseudomonas* sp, *Clostridium* sp, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Fusarium* sp, *Rhizopus* sp y *Aspergillus* sp en concentraciones de 10^3 y 10^6 UFC/g. El ACAC fue comparado frente a dos formulaciones comerciales de ácidos orgánicos (A: ácido fórmico/ácido propiónico, y B: ácido propiónico al 90%), utilizando dos tiempos de tratamiento por 24 horas y 7 días. Los resultados muestran que ACAC tuvo un efecto antibacteriano mayor al 95 % (experimentos: 10^3 y 10^6 UFC/g), observando un mayor efecto del producto a los 7 días de tratamiento frente a 24 h (experimento: 10^6 UFC/g). También se ha observado que ACAC tuvo un efecto antimicótico mayor al 84 % (experimentos: 10^3 y 10^6 UFC/g). El efecto antimicrobiano de ACAC mostró ser mejor frente a los ácidos orgánicos comerciales A y B. Por tanto, el presente estudio ha demostrado que ACAC (tratamiento por 24 horas y 7 días) tiene un buen efecto antibacteriano y antimicótico frente a los agentes patógenos *Pseudomonas* sp., *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* sp., *Rhizopus* sp., *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp., que frecuentemente están presentes en el maíz o pienso destinados a la alimentación de pollos broiler.

1 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Laboratorio de Zootecnia y Producción Animal. Lima, Perú

E-mail: hugo.patino@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1299-0729>

2 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Estación IVITA-Pucallpa. Lima, Perú

E-mail: zclavop@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9845-7997>

3 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú

E-mail: nramosc@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4361-1330>

4 Universidad Nacional del Centro, Facultad de Industrias Alimentarias. Huancayo, Perú

E-mail: miguel.quispe1@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1863-7400>

5 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Laboratorio de Farmacología y Toxicología. Lima, Perú

E-mail: jrodriguez3@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3962-2101>

6 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Laboratorio de Zootecnia y Producción Animal. Lima, Perú

Autor para correspondencia: nramosgo@unmsm.edu.pe - ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9990-4074>

Citar como:

Patiño-López, H., Mirella Clavo, Z., Ramos-Cevallos, N., Quispe, M., Rodríguez, J., & Ramos-Gonzalez, M. (2022). Efecto bactericida y fungicida de una formulación de anillo cimenol-ácido cítrico sobre maíz para pienso experimentalmente contaminado. *Ciencia e Investigación* 2022 25(1):35-44. doi: <https://doi.org/10.15381/ci.v25i1.23473>

Palabras clave: anillo cimenol-ácido cítrico; bactericida; fungicida; maíz para pienso.

Abstract

The indiscriminate use of antimicrobials (bactericidal, antifungals, or antivirals), used prophylactically in food or therapeutically in the poultry industry, has caused growing concern about the antimicrobial resistance of many microorganisms, endangering the effectiveness of prevention and the treatment of certain infections. Therefore, several production industries, including the poultry industry, are choosing to replace these commercial antimicrobials with natural antimicrobial agents that come from medicinal plants, evaluating the effects of their extracts or these secondary metabolites. Therefore, the study aimed to evaluate the antimicrobial activity (bactericidal and antifungal) from a natural formulation of cimenol-citric acid ring (ACAC) against experimentally contaminated corn with *Pseudomonas sp.*, *Clostridium sp.*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Fusarium sp.*, *Rhizopus sp.* and *Aspergillus sp.* at 10^3 and 10^6 CFU/g concentrations. ACAC was compared against two commercial formulations of organic acids (A: formic acid/propionic acid, and B: 90% propionic acid), using two treatment time for 24 and 7 days. The results show that ACAC had an antibacterial effect greater than 95% (experiments: 10^3 and 10^6 CFU/g), with a greater effect of the product at 7 days of treatment rather than to 24 h (experiment: 10^6 CFU/g). It has also been observed that ACAC had an antifungal effect greater than 84% (experiments: 10^3 and 10^6 CFU/g). The antimicrobial effect of ACAC was shown to be better against commercial organic acids A and B. Therefore, the present study has shown that ACAC (treatment for 24 hours and 7 days) has a good antibacterial and antifungal effect against pathogens: *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella sp.*, *Rhizopus sp.*, *Fusarium sp.* and *Aspergillus sp.*, which are frequently present in corn or feed intended for feeding broilers chickens.

Keywords: Cimenol ring-citric acid; bactericidal; antifungals; feed maize.

INTRODUCCIÓN

El sector avícola orientado a la producción de aves y huevos comerciales participa con el 20.6% del Valor Bruto de la Producción Agropecuaria (ave 17.3%; huevo de gallina 3.3%) posicionándose como la primera fuente de proteína animal en el Perú, garantizando el abastecimiento de los principales alimentos de la actividad avícola ¹. No obstante, la industria avícola enfrenta grandes retos debido al incremento de enfermedades infecciosas, de ahí que existe un gran uso de antimicrobianos como agentes terapéuticos y como promotores de crecimiento para aumentar la productividad y la eficiencia en pollos parrilleros ². A pesar de la contribución sustancial a la industria avícola, los antimicrobianos están bajo vigilancia debido a la alta incidencia de resistencia por su uso inadecuado ³; incluso restringiendo su uso preventivo ⁴.

La industria avícola viene desarrollando soluciones alternativas confiables y efectivas ante los antimicrobianos, sin comprometer la productividad y el bienestar animal ⁵; entre estas, el desarrollo de nuevas estrategias de reducción o sustitución los antimicrobianos por el uso de extractos de plantas ⁶, ácidos orgánicos, probióticos, prebióticos ⁷, aceites esenciales y enzimas exógenas ⁸.

Los extractos de plantas y sus componentes biológicamente activos (metabolitos secundarios) como terpenoides, ácidos fenólicos, glucósidos, flavonoides y alcaloides ⁹ muestran un alto impacto en la industria avícola al mejorar su rendimiento y productividad. Por ejemplo, el té verde, la ortiga, el poleo, la milenrama y la alfalfa en forma de semilla, polvo o extracto tienen un gran potencial para mejorar la inmunidad, reducir el crecimiento de microbios patógenos y mejorar los recuentos viables de bacterias del ácido láctico ¹⁰. Los extractos de plantas han mostrado; además, propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, antioxidantes y antiparasitarias ¹¹.

Se reconoce que el uso de extractos de plantas o sus compuestos fitogénicos como suplementos alimenticios para aves de corral pueden tener un efecto positivo en la salud y la productividad ¹²; por ejemplo, frente a enfermedades como la enteritis necrótica causada por el *Clostridium perfringens* ¹³. Estudios *in vivo* apoyan la propuesta del potencial antimicrobiano de aditivos fitogénicos para alimento balanceado de aves, especialmente frente a patógenos intestinales ¹⁴. Los extractos de plantas y sus metabolitos generalmente se consideran seguros y efectivos contra ciertas bacterias y se utilizan ampliamente en alimento balanceado como promotores de crecimiento ¹⁵, especialmente en países de Asia, África y América del Sur, y en los últimos años en países desarrollados ¹⁶.

Por otro lado, el anillo-cimenol (p-cimeno), también conocido como p-cimol o p-isopropiltolueno, es un compuesto aromático sustituido con alquilo que se encuentra de forma natural en los aceites esenciales de varias plantas aromáticas, incluidos los géneros *Artemisia*, *Protium*, *Origanum* y *Thymus*, y se encuentra estrechamente relacionado con la familia de los terpenos, especialmente los monoterpenos monocíclicos. También está presente en varias plantas alimenticias como las zanahorias, jugo de naranja, pomelo, mandarina, frambuesas y varias especias. Sobre sus propiedades farmacológicas de los monoterpenos como el p-cimeno, que incluye actividades antioxidantes, antiinflamatorias, antiparasitarias, antidiabéticas, antivirales, antitumorales, antibacterianas y antifúngicas. También se ha informado que el anillo cimenol actúa como agente analgésico, antinociceptivo, inmunomodulador, vasorelajante y neuroprotector ¹⁷. Por lo descrito, el presente estudio tiene por objetivo evaluar el efecto antimicrobiano de una formulación natural en base a anillo cimenol (p-cimeno, componente principal) y ácido cítrico en forma líquida en maíz amarillo duro utilizado para la elaboración de pienso, y que contaminado experimentalmente

con algunos patógenos (bacterias y hongos) causantes de infecciones digestivas en pollos de engorde.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de Ejecución

El presente estudio se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de la Empresa ADIVET y en el Laboratorio de Zootecnia y Producción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en Lima, Perú.

Agentes Patógenos

Los agentes patógenos (bacterias y hongos) utilizados en el estudio provinieron de casos clínicos de infecciones digestivas aviares de granjas peruanas, y que se encuentran almacenadas en el cepario bacteriano y micológico del Laboratorio Serológico Lasser (Lima, Perú). Los microorganismos utilizados *Pseudomonas* sp, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* sp, *Rhizopus* sp, *Fusarium* sp y *Aspergillus* sp. fueron reactivados utilizando Agar Tripticasa de soya, Agar Sangre y Agar Sabouraud.

Compuestos Químicos y Naturales

Se utilizaron dos formulaciones comerciales de ácidos orgánicos de amplio uso en industria avícola, A: mezcla de ácido fórmico y ácido propiónico y B: ácido propiónico 90%. Así mismo, el anillo cimenol es un conservante natural con poder antimicrobiano, y esta actividad mejora al añadirse ácido cítrico. La formulación de anillo cimenol-ácido cítrico (ACAC) fue obtenida gracias al Laboratorio BIOVET (Barcelona, España).

Diseño Experimental

En cada ensayo se utilizó 100 g de maíz amarillo duro molido como sustrato, previamente esterilizado con calor húmedo, y que fue contaminado con cada microorganismo patógeno por triplicado a una concentración de 10^3 y 10^6 UFC/g, tanto para bacterias como para hongos. El maíz amarillo duro utilizado fue el producto importado para su empleo como alimento balanceado de pollos broiler.

Los sustratos contaminados con bacterias u hongos fueron tratados con ACAC, y con los ácidos orgánicos A y B en las concentraciones de 0,5, 2 y 1 L/tonelada (l/t), respectivamente. Los tratamientos con ACAC y ácidos orgánicos se realizaron por 24 h y 7 días.

Se realizó el recuento en placa de bacterias y hongos (*Pseudomonas* sp, *E. coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* sp, *Rhizopus* sp, *Fusarium* sp y *Aspergillus* sp) de acuerdo con:

- ISO 4833-2:2013, Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Parte 2: Recuento de colonias a 30 °C mediante la técnica de siembra en superficie.
- ISO 16649-1: 2018, Microbiología de la cadena alimentaria - Método horizontal para el recuento de *Escherichia coli* beta-glucuronidasa positiva - Parte

1: Técnica de recuento de colonias a 44 °C utilizando membranas y 5-bromo-4-cloro-3-indolil beta-D-glucuronido.

- ISO/DIS 15213-1: 2021, Microbiología de la cadena alimentaria - Método horizontal para la detección y enumeración de *Clostridium* spp. - Parte 1: Enumeración de *Clostridium* spp. por técnica de conteo de colonias.
- ISO 6579-1: 2017, Microbiología de la cadena alimentaria - Método horizontal para la detección, enumeración y serotipificación de *Salmonella* - Parte 1: Detección de *Salmonella* spp.
- ISO 21527-2: 2008, Microbiología de alimentos y alimentos para animales- Método horizontal para el recuento de levaduras y mohos-Parte 2: Técnica de recuento de colonias en productos con actividad de agua menor o igual a 0,95.
- Los resultados obtenidos se expresaron de acuerdo a las unidades formadoras de colonias bacterianas (UFC/g de Bacterias), las unidades formadoras de colonias de hongos (UFC/g de Hongos) y como porcentajes de reducción (%).

Análisis de Datos

Los datos obtenidos por luminometría se expresaron en términos de la media \pm desviación estándar. La prueba estadística usada fue el análisis de varianza de doble vía y la comparación de promedios se realizó utilizando la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los resultados se analizaron mediante el software GraphPad Prism 6.0.

RESULTADOS

El efecto antibacteriano de los tres productos bajo evaluación quedó demostrado frente al grupo control en muestras de maíz amarillo duro contaminado con *Pseudomonas* sp a la concentración de 10^3 UFC/g, sin haber diferencias entre tiempos de exposición ($p < 0.05$). Asimismo, el efecto antibacteriano fue mayor en ACAC en comparación con los otros dos ácidos comerciales ($p < 0.05$), tanto a las 24 h como a los 7 d de exposición (Tabla 1). Efectos similares fueron obtenidos con la concentración de 10^6 UFC/g de *Pseudomonas* sp, pero en este caso se observó un mejor efecto a los 7 días de tratamiento con los tres productos en comparación con el tratamiento de 24 h (Tabla 2).

El efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli* (10^3 UFC/g) fue significativamente efectivo en los tres grupos tratados en comparación con el grupo control, tanto a las 24 h como a los 7 días de exposición ($p < 0.05$), observándose una reducción bacteriana de 99% El efecto fue aún mayor para el tratamiento con ACAC durante 24 h ($p < 0.05$). Por otro lado, no hubo diferencias significativas entre los tiempos de exposición (Tabla 3). Estos efectos fueron igualmente similares frente a la concentración de 10^6 UFC/g de *Escherichia coli*, con la diferencia de un mejor efecto a la exposición a los 7 días en relación a las 24 h ($p < 0.05$) (Tabla 4).

Tabla 1. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Pseudomonas* sp (10^3 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	21 ^c	2	99	17 ^c	2	99
A (2.0 l/t)	68 ^b	4	95	46 ^b	4	97
B (1.0 l/t)	60 ^b	3	96	38 ^b	3	98
Control (+)	1443 ^a	31	0	1567 ^a	12	0

^{a,b,c} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Tabla 2. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Pseudomonas* sp (10^6 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	37200 ^c	3,703	97	21600 ^c	1,453	98
A (2.0 l/t)	80100 ^b	2,553	94	67767 ^{b*}	569	95
B (1.0 l/t)	73100 ^b	2,381	94	61033 ^{b*}	1,450	96
Control (+)	1250000 ^a	40,000	0	1380000 ^a	36056	0

^{a,b,c} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

* Diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tiempos de exposición (24 h vs. 7 d)

Tabla 3. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Escherichia coli* (10^3 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	17 ^c	4	99	12 ^b	3	99
A (2.0 l/t)	49 ^b	5	97	17 ^b	3	99
B (1.0 l/t)	41 ^b	4	98	14 ^b	3	99
Control (+)	1670 ^a	40	0	1880 ^a	79	0

^{a,b,c} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Tabla 4. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Escherichia coli* (10^6 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	48500 ^d	529	96	3977 ^{c*}	91	100
A (2.0 l/t)	71533 ^c	379	94	18933 ^{b*}	252	99
B (1.0 l/t)	68233 ^b	493	95	18533 ^{b*}	569	99
Control (+)	1273333 ^a	60277	0	1373333 ^a	40415	0

^{a,b,c,d} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

* Diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tiempos de exposición (24 h vs. 7 d)

El efecto antibacteriano frente a *Clostridium perfringens* (10^3 UFC/g) fue significativamente efectivo en los tres grupos tratados en comparación con el grupo control, tanto a las 24 h como a los 7 días de exposición ($p < 0.05$). Sin embargo, sin diferencias significativas entre los compuestos bajo evaluación, con excepción de un mejor resultado con ACAC frente al ácido orgánico A con 7 días de exposición ($p < 0.05$). Por otro lado, no hubo diferencias entre tiempos de exposición (Tabla 5). En la concentración de 10^6 UFC/g de *Cl. perfringens* se obser-

varon mejores resultados con el uso del ACAC a las 24 h de exposición; asimismo, se observó un mejor efecto a los 7 días de tratamiento con ACAC frente a las 24 horas (Tabla 6).

El efecto antibacteriano frente a 10^3 UFC/g y 10^6 UFC/g de *Salmonella* sp fue similar al observado con la contaminación con frente a *Clostridium perfringens* en dichas concentraciones (Tablas 7 y 8). Por otro lado, el tiempo de exposición solo mostró diferencias significativas para el ácido orgánico A (Tabla 7).

Tabla 5. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Clostridium perfringens* (10^3 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	30	8	98	19 ^c	3	99
A (2.0 l/t)	38	4	97	35 ^b	5	97
B (1.0 l/t)	41	2	97	27 ^{bc}	4	98
Control (+)	1270	56	0	1323 ^a	35	0

^{a,b,c} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Tabla 6. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Clostridium perfringens* (10^6 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	54967 ^d	611	95	14167 ^{c*}	503	99
A (2.0 l/t)	75667 ^c	513	93	17967 ^{b*}	416	99
B (1.0 l/t)	69267 ^b	1012	94	15700 ^{c*}	265	99
Control (+)	1143333 ^a	45092	0	1256667 ^a	56862	0

^{a,b,c,d} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

* Diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tiempos de exposición (24 h vs. 7 d)

Tabla 7. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Salmonella* sp (10^3 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	15 ^c	4	99	8 ^b	3	100
A (2.0 l/t)	42 ^b	4	97	14 ^{b*}	3	99
B (1.0 l/t)	34 ^b	5	98	12 ^b	3	99
Control (+)	1530 ^a	62	0	1750 ^a	56	0

^{a,b,c} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

* Diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tiempos de exposición (24 h vs. 7 d)

Tabla 8. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Salmonella* sp (10^6 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	41533 ^d	404	96	986 ^{c*}	13	100
A (2.0 l/t)	61133 ^c	709	94	14067 ^{b*}	208	99
B (1.0 l/t)	57867 ^b	1537	95	13567 ^{b*}	252	99
Control (+)	1054667 ^a	33,247	0	1233333 ^a	37859	0

^{a,b,c,d} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

* Diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tiempos de exposición (24 h vs. 7 d)

Los compuestos químicos y naturales frente a *Rhizopus* sp, tanto en la concentración de 10^3 como de 10^6 UFC/g mostraron similar respuesta, siendo más afectivo el ACAC que los dos ácidos orgánicos, y estos tres con el grupo control ($p < 0.05$) (Tablas 9 y 10); asimismo, el tiempo de exposición de 7 días fue más efectivo que solo con 24 h frente a la concentración de 10^6 UFC/g de *Rhizopus* sp (Tabla 10).

El efecto antimicótico frente a *Fusarium* sp (10^3 UFC/g) fue significativamente más efectivo con la aplicación de

ACAC, seguido del ácido comercial B y del ácido comercial A ($p < 0.05$); asimismo, para ACAC se encontró una mayor efectividad con la exposición de 7 días en comparación a las 24 h ($p < 0.05$) (Tabla 11). En el caso de la concentración de 10^6 UFC/g de *Fusarium* sp, no hubo diferencias en la respuesta a los dos ácidos orgánicos, pero su respuesta fue significativamente menor que con la aplicación de ACAC ($p < 0.05$); por otro lado, en este caso no hubo diferencias significativas entre tiempos de exposición (Tabla 12).

El efecto antimicótico de ACAC y del ácido orgánico B frente a *Aspergillus* sp (10^3 UFC/g) fue igualmente efectivo frente al control, tanto a las 24 h como a los 7 días de exposición, y superior al efecto del ácido comercial A ($p < 0.05$) (Tabla 13). Ese mismo resultado se observó frente a 10^6 UFC/g de *Aspergillus* sp a las 24 h de exposición ($p < 0.05$); sin embargo, el efecto de ACAC fue superior a los dos ácidos comerciales ($p < 0.05$) a los 7

días de exposición (Tabla 14). En ningún caso se encontraron diferencias significativas en respuestas por efecto del tipo de exposición.

DISCUSIÓN

En el presente estudio hemos demostrado que la formulación de anillo cimenol-ácido cítrico (ACAC), cuyo principio activo es el anillo cimenol, ha tenido un

Tabla 9. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Rhizopus* sp (10^3 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	169 ^a	4	87	194 ^c	4	88
A (2.0 l/t)	201 ^c	5	84	240 ^b	5	85
B (1.0 l/t)	190 ^b	4	85	224 ^b	4	86
Control (+)	1253 ^a	31	0	1593 ^a	21	0

^{a,b,c,d} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Tabla 10. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Rhizopus* sp (10^6 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	202000 ^d	2646	85	209000 ^d	1732	86
A (2.0 l/t)	234000 ^c	3000	82	251000 ^{c*}	2000	83
B (1.0 l/t)	224000 ^b	4359	83	238000 ^{b*}	1732	84
Control (+)	1313333 ^a	30551	0	1483333 ^a	45092	0

^{a,b,c,d} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

* Diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tiempos de exposición (24 h vs. 7 d)

Tabla 11. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Fusarium* sp. (10^3 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	181 ^d	3	87	172 ^d	3	88
A (2.0 l/t)	217 ^c	2	84	211 ^c	4	85
B (1.0 l/t)	207 ^b	2	85	199 ^b	4	86
Control (+)	1377 ^a	12	0	1420 ^a	26	0

^{b,c,d} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

* Diferencia significativa ($p < 0.05$) entre tiempos de exposición (24 h vs. 7 d)

Tabla 12. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Fusarium* sp. (10^6 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	223000 ^c	2000	85	221000 ^c	3000	86
A (2.0 l/t)	256000 ^b	3606	83	263000 ^b	4583	83
B (1.0 l/t)	253000 ^b	2000	83	253000 ^b	6557	84
Control (+)	1483333 ^a	30551	0	1573333 ^a	25166	0

^{a,b,c} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Tabla 13. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Aspergillus* sp. (10^3 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	190 ^c	8	87	181 ^c	3	88
A (2.0 l/t)	220 ^b	6	84	223 ^b	5	85
B (1.0 l/t)	202 ^{bc}	7	86	195 ^{bc}	3	87
Control (+)	1410 ^a	26	0	1493 ^a	40	0

^{a,b,c} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Tabla 14. Efecto de ACAC y dos mezclas de ácidos orgánicos sobre la reducción de *Aspergillus* sp. (10^6 UFC/g) en maíz, por tratamientos de 24 horas y 7 días.

Producto	24 horas			7 días		
	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)	Promedio. (UFC/g)	D.E.	Porcentaje de reducción (UFC/g)
ACAC (0.5 l/t)	218000 ^c	3606	84	217333 ^d	2309	86
A (2.0 l/t)	233000 ^b	6245	83	251000 ^c	2646	83
B (1.0 l/t)	221667 ^{bc}	3786	84	230667 ^b	5132	85
Control (+)	1386667 ^a	25166	0	1513333 ^a	20817	0

^{a,b,c,d} Letras distintas dentro de columnas indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

efecto significativo en la reducción de la carga bacteriana en maíz frente a *Pseudomonas* sp., *E. coli*, *C. perfringens* y *Salmonella* sp. (Tabla 1-8), lo que demuestra que su uso puede ser una alternativa altamente confiable frente a patógenos que contaminan el pienso de los animales y que pueden ocasionar enfermedad y que traerían consigo grandes pérdidas a la industria avícola. Así mismo, otros compuestos naturales han demostrado ser eficientes en la reducción de bacterias patógenas en el alimento de pollos, es el caso de los aceites esenciales (contenían carvacrol) y los ácidos orgánicos (propiónico y caproico) frente a *Salmonella enteritidis* inoculado experimentalmente en alimentos para pollos, donde se observó un efecto sinérgico altamente eficaz entre estos compuestos que podrían ser capaces de prevenir la salmonelosis en pollos¹⁸. Otro estudio determinó el efecto de curcúmina, timol, cinamaldehído y carvacrol como potenciales bactericidas en el alimento de pollos de engorde, encontrándose recuentos bacterianos de *Escherichia coli* significativamente más bajos el día 21 en todos los grupos que recibieron aditivos frente al grupo control¹⁹.

Así mismo, los resultados han demostrado que en la mayoría de casos (Tabla 1-8) ACAC ha tenido un mayor efecto antibacteriano que los ácidos orgánicos A (ácido fórmico/propiónico) y B (ácido propiónico) utilizados en este estudio. Pero a pesar de ello es conocido el efecto antibacteriano de los ácidos orgánicos en el pienso para animales²⁰, es así que diversos estudios han demostrado que añadir ácido fumárico al pienso animal redujo la carga bacteriana y mejoró la eficiencia alimentaria^{21,22}, o que la inclusión a la dieta de ácido butírico tuvo efecto antimicrobiano y una mejora en la ganancia de peso en pollos de engorde²³, de igual forma estos efectos también se pudieron observar con el ácido láctico, cítrico, fórmico, málico, sórbico y tartárico^{24,25}. Sin embargo,

los ácidos orgánicos no son considerados compuestos naturales o metabolitos secundarios de extractos de plantas por su naturaleza carboxílica y su carácter ácido débil²⁶, en cambio ACAC cuyo principio activo es el p-cimeno es un monoterpene (metabolito secundario de extracto de plantas) y que su naturaleza le confiere un valor agregado cuando hablamos del uso de antimicrobianos naturales.

La contaminación bacteriana del alimento utilizado en la industria avícola no es la única que causa estragos en este tipo de producción, también lo hace la contaminación por hongos o sus metabolitos tóxicos (micotoxinas). Por ejemplo, un estudio desarrollado por Yin et al.²⁷ observaron que la contaminación del alimento por aflatoxinas o los hongos que las producen (*Aspergillus* sp.) fueron controlados con el uso de carvacrol y trans-cinamaldehído, reduciendo el crecimiento de *A. flavus* y *A. parasiticus* y la producción de aflatoxinas en alimento para pollos en al menos un 60% en comparación con los controles. En nuestro estudio el producto natural ACAC ha demostrado una eficiencia mayor en la reducción de la carga micótica de *Aspergillus* sp. y los otros hongos estudiados (*Rhizopus* sp. y *Fusarium* sp.) por encima del 80 % con respecto al control (Tabla 9-14), incluso en la mayoría de los ensayos ACAC ha demostrado ser más eficiente que los ácidos orgánicos A y B. Así mismo, otros compuestos naturales como la *Curcuma longa*, *Pimenta dioica*, *Rosmarinus officinalis* y *Syzygium aromaticum* mostraron actividad antifúngica y anticonidiógena frente a *Fusarium verticillioides*, posiblemente debido al efecto del eugenol, el mayor metabolito detectado en estos extractos²⁸. En otro estudio se utilizó aceite esencial de orégano y el timol frente a algunas especies de hongos involucrados en el deterioro del maíz, y por estos compuestos frente a los hongos

Aspergillus niger, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. y *Mucor* sp.²⁹.

Otros estudios muestran el efecto de diferentes concentraciones de p-cimeno sobre el crecimiento de *Candida lusitanae* utilizando el ensayo de caldo de Sabouraud, mostrando que este monoterpeno inhibía completamente el crecimiento de la levadura de forma dosis-dependiente a partir de 1 mM durante al menos 21 días a 25 °C³⁰. Estos resultados son consistentes con otros estudios donde se demuestra la eficacia del p-cimeno en la inhibición de *Candida krusei*, *Candida albicans* y *Candida tropicalis*³¹. Además, Kordali et al.³² demostraron en su estudio p-cimeno produce la inhibición del crecimiento de hifas, lo que significaría que el p-cimeno a 10 mg tiene actividad antifúngica sobre el crecimiento micelial de 17 hongos patógenos agrícolas (*Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Botrytis* sp., *Fusarium acuminatum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium nivale*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium sambucinum*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium solani*, *Monilinia* sp., *Pythium ultimum*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia minor* y *Verticillium dahliae*), con un diámetro de crecimiento micelial que oscila entre 14,6 mm y 65,8 mm. Así mismo, Tian et al.³³ observaron que el p-cimeno inhibió efectivamente el crecimiento de *A. flavus* de forma dosis-dependiente. Este monoterpeno bloqueó completamente el crecimiento de *A. flavus* a una concentración de 80 mg/L pero no inhibió significativamente la producción de esporas, esto en comparación con el control; mientras que a 40 mg/L, el crecimiento radial fúngico se redujo en un 50 %. Sin embargo, la inhibición de la producción de aflatoxina B1 por *A. flavus* fue la más contundente. Así mismo, p-cimeno a 80 mg/L redujo la producción de aflatoxina B1 y el crecimiento de hongos en un 100%, y a 40 mg/L, p-cimeno inhibió la producción de ergosterol en células fúngicas en comparación con el control.

Respecto a la actividad antimicrobiana del anillo cimenol, se ha observado en este estudio que ACAC tuvo la capacidad para reducir el crecimiento antimicrobiano, en algunos casos hasta el 100%, esto se debería al comportamiento del anillo cimenol como un monoterpeno^{34, 35}. Así mismo, dentro de sus mecanismos antimicrobianos específicos se ha observado que diversas proteínas del metabolismo energético microbiano como la enolasa, la piruvato quinasa, la aconitasa, la subunidad beta de la succinil-CoA sintetasa y la subunidad beta de la ATP sintasa fueron inducidas por el anillo cimenol. La microscopía electrónica mostró que las bacterias cultivadas con p-cimeno exhibieron membranas externas e internas difusas y un periplasma aumentado. Además, la formación de biopelículas se redujo en las cepas expuestas al anillo cimenol. En general, se ha determinado que el anillo cimenol activó una respuesta de estrés en la cepa LB400 y redujo la formación de biopelículas³⁶.

CONCLUSIONES

- La formulación ACAC mostró un efecto antibacteriano y antimicótico efectivo frente a los patógenos

Pseudomonas sp, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* sp, *Rhizopus* sp, *Fusarium* sp y *Aspergillus* sp, tanto en tratamientos con tiempo o de exposición de 24 h como de 7 días.

- El ACAC natural fue, en general, a menor dosis fue más eficiente (en promedio 2 puntos porcentuales) para el control de los patógenos mencionados que los ácidos orgánicos A y B, incluso alcanzado valores del 100 %, especialmente en agentes bacterianos.
- El presente estudio demostró que la formulación ACAC (producto natural), es una buena alternativa frente a compuestos químicos como los ácidos orgánicos, en la prevención de la contaminación microbológica de alimentos de uso animal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MIDAGRI. 2021. Lima: Ministerio de desarrollo agrario y riego. [Internet], [20 octubre 2021] disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/2075050/Bolet%C3%ADn%20sobre%20producci%C3%B3n%20y%20comercializaci%C3%B3n-av%C3%ADcola-%20JUNIO%202021.pdf>
2. Danzeisen JL, Clayton JB, Huang H, Knights D, McComb B, Hayer SS, et al. Temporal relationships exist between cecum, ileum, and litter bacterial microbiomes in a commercial Turkey flock, and subtherapeutic penicillin treatment impacts ileum bacterial community establishment. *Frontiers in Veterinary Science*. 2015; 2: 1–10. doi: 10.3389/fvets.2015.00056
3. Suresh G, Das RK, Brar SK, Rouissi T, Ramirez A, Chorfi Y, et al. Critical Reviews in Microbiology Alternatives to antibiotics in poultry feed. *Molecular perspectives*. 2017; 44: 318-335. doi: 10.1080/1040841X.2017.1373062
4. Barton MD. Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutrition Research Reviews*. 2000; 61: 279–299. doi: 10.1079/095442200108729106
5. Casewell M, Friis C, Marco E, McMullin P, Phillips I. The European ban on growth-promoting antibiotics and emerging consequences for human and animal health. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2003; 52: 159–161. doi: 10.1093/jac/dkg313
6. Diaz-Sanchez S, Souza DD, Biswas D, Hanning I. Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Poultry Science*. 2008; 94: 1419–1430. doi: 10.3382 / ps / pev014
7. Chen YP, Wen C, Zhou YM. Dietary synbiotic incorporation as an alternative to antibiotic improves growth performance, intestinal morphology, immunity and antioxidant capacity of broilers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2018; 98: 3343-3350. doi: 10.1002/jsfa.8838
8. Kiarie EG, Mills A. Role of Feed Processing on Gut Health and Function in Pigs and Poultry: Conundrum of Optimal Particle Size and Hydrothermal Regimens. *Frontiers in Veterinary Science*. 2019; 6: 1–13. doi.org/10.3389/fvets.2019.00019
9. Huyghebaert G, Ducatelle R, Immerseel FV. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *The Veterinary Journal*. 2011; 187: 182-188. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.03.003
10. Pliego AB, Tavakoli M, Khusro A, Elghandour MY, Salem AZ, Rivas-Cáceres RR. Beneficial and adverse effects of medicinal plants as feed supplements in poultry

- nutrition : a review. *Animal Biotechnology*. 2021; 1-23. doi: 10.1080/10495398.2020.1798973
11. Vondruskova H, Slamova R, Trckova M, Zraly Z, Pavlik I. Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhoea in weaned piglets : a review. *Veterinárni Medicína*. 2010; 55: 199-224. doi: 10.17221/2998-vetmed
 12. Redondo LM, Chacana PA, Dominguez JE, Miyakawa MEF, Nosanchuk JD, Einstein A. Perspectives in the use of tannins as alternative to antimicrobial growth promoter factors in poultry. *Frontiers in Microbiology*. 2014; 5: 1-7. doi: 10.3389/fmicb.2014.00118
 13. Taylor P, Engberg RM, Grevsen K, Ivarsen E, Fretté X, Christensen P, Højberg O. The effect of *Artemisia annua* on broiler performance, on intestinal microbiota and on the course of a *Clostridium perfringens* infection applying a necrotic enteritis disease model The effect of *Artemisia annua* on broiler performance, on intestinal micro. *Patología Aviar*. 2012; 4: 369-376. doi:10.1080/03079457.2012.696185
 14. Windisch W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A, Windisch W, Schedle K, et al. The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at : Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science*. 2008; 86: 140 -148. doi: 10.2527/jas.2007-0459
 15. Abreu AC, Mcbain J, Sim M. Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents. *Natural Products Reports*. 2012; 29: 1007-1021. doi: 10.1039/c2np20035j
 16. Hashemi S, Davoodi H. Phyto-genics as New Class of Feed Additive in Poultry Industry. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2010; 9: 2295-2304. doi: 10.3923/javva.2010.2295.2304
 17. Balahbib A, El Omari N, Hachlafi NE, Lakhdar F, El Menyiy N, Salhi N, Mrabti HN, Bakrim S, Zengin G, Bouyahya A. Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. *Food Chem Toxicol*. 2021; 153:112259. doi: 10.1016/j.fct.2021.112259.
 18. Oliveira GR, Oliveira WK, Andrade C, Melo ADB, Luciano FB, Macedo REF, et al. Natural antimicrobials for control of *Salmonella* Enteritidis in feed and in vitro model of the chicken digestive process. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 2019; 103: 756-765. doi: 10.1111/jpn.13070.
 19. Galli GM, Gerbet RR, Griss LG, Fortuoso BF, Petrolli TG, Boiago MM, et al. Combination of herbal components (curcumin, carvacrol, thymol, cinnamaldehyde) in broiler chicken feed: Impacts on response parameters, performance, fatty acid profiles, meat quality and control of coccidia and bacteria. *Microb Pathog*. 2020; 139:1-35. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103916.
 20. Cave NA. Effect of dietary propionic and lactic acids on feed intake by chicks. *Poult Sci*. 1984; 63:131-134. doi: 10.3382/ps.0630131.
 21. Adil S, Banday T, Bhat GA, Salahuddin M, Raquib M, Shanaz S. Respuesta del pollo de engorde a la suplementación dietética de ácidos orgánicos. *Revista de agricultura de Europa Central*. 2011; 12: 498-508. doi: 10.5513/JCEA01/12.3.947
 22. Banday MT, Adil S, Khan AA, Untoo M. Un estudio de la eficacia de la suplementación con ácido fumárico en la dieta de pollos de engorde. *Revista Internacional de Ciencias Avícolas*. 2015; 14: 589-594. doi: 10.3923/ijps.2015.589.594
 23. Panda AK, Rama Rao SV, Raju MVLN, Shyam Sunder G. Efecto del ácido butírico sobre el rendimiento, la salud del tracto gastrointestinal y las características de la canal en pollos de engorde. *Revista Asiático-Australasia de Ciencia Animal*. 2009; 22: 1026-1031. doi: 10.5713/ajas.2009.80298
 24. Chowdhury R, Islam KMS, Khan MJ, Karim MR, Haque MN, Khatun M, et al. Efecto del ácido cítrico, avilamicina y su combinación sobre el rendimiento, la ceniza de tibia y el estado inmunológico de los pollos de engorde. *Ciencia avícola*. 2009; 88: 1616-1622. doi: 10.3382/ps.2009-00119
 25. Salgado-Tránsito L, Del Río-García JC, Arjona-Román JL, Moreno-Martínez E, Méndez-Albores A. Effect of citric acid supplemented diets on aflatoxin degradation, growth performance and serum parameters in broiler chickens. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 2011; 43: 215-222. doi: 10.4067/S0301-732X2011000300003
 26. Scapinello C, Faria HG, Furlan AC, Shimmack MR. Influência de Diferentes Níveis de Ácido Fumárico ou Ácido Acético sobre o Desempenho de Coelho em Crescimento. *R. Bras. Zootec*. 1998; 27: 945-950. doi: 10.1590/S1516-35981999000400019
 27. Yin HB, Chen CH, Kollanoor-Johny A, Darre MJ, Venkitanarayanan K. Controlling *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production in poultry feed using carvacrol and trans-cinnamaldehyde. *Poult Sci*. 2015; 94: 2183-2190. doi: 10.3382/ps/pev207.
 28. Achimón F, Brito VD, Pizzolitto RP, Ramirez SA, Gómez EA, Zygadlo JA. Chemical composition and antifungal properties of commercial essential oils against the maize phytopathogenic fungus *Fusarium verticillioides*. *Rev Argent Microbiol*. 2021; 2: 1-12. doi: 10.1016/j.ram.2020.12.001.
 29. Boudine L, Louaste B, Eloutassi N, Chami N, Chami F, Remmal A. Antifungal activity of oregano essential oil and thymol against some fungi isolated from corn grains. *International Journal of Innovation and Applied Studies*. 2016; 17: 1120-1124.
 30. Aznar A, Fernández P, Periago P, Palop A. Antimicrobial activity of nisin, thymol, carvacrol and cymene against growth of *Candida lusitanae*. *Food Sci. Technol*. 2015; 21: 72-79.
 31. Souza E, Stamford L, Lima E, Trajano V. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *Food Contr*. 2007; 18: 409-413.
 32. Kordali S, Cakir A, Ozer H, Cakmakci R, Kesdek M, Mete E. Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresour. Technol*. 2008; 99: 8788-8795.
 33. Tian F, Woo S, Lee S, Chun H. p-Cymene and its derivatives exhibit antiaflatoxigenic activities against *Aspergillus flavus* through multiple modes of action. *Appl. Biol. Chem*. 2018; 61: 489-497.
 34. Quintans-Júnior L, Moreira JC, Pasquali MA, Rabie SM, Pires AS, Schröder R, Rabelo TK, Santos JP, Lima PS, Cavalcanti SC. Antinociceptive Activity and Redox Profile of the Monoterpenes (+)-Camphene, p-Cymene, and Geranyl Acetate in Experimental Models. *ISRN Toxicol*. 2013; 2013: 459530.
 35. Quintans JDSS, Menezes PP, Santos MR, Bonjardim LR, Almeida JR, Gelain DP, Quintans-Júnior LJ. Improvement of p-cymene antinociceptive and anti-inflammatory effects by inclusion in β -cyclodextrin. *Phytomedicine*. 2013; 20: 436-440. doi: 10.1016/j.phymed.2012.12.009.

36. Agulló L, Romero-Silva MJ, Domenech M, Seeger M. p-Cymene Promotes Its Catabolism through the p-Cymene and the p-Cumate Pathways, Activates a Stress Response and Reduces the Biofilm Formation in *Burkholderia xenovorans* LB400. *PLoS One*. 2017; 12(1):e0169544. Published 2017 Jan 10. doi:10.1371/journal.pone.0169544

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación de este artículo.

Fuente de financiamiento

Auofinanciado.