

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
ESCUELA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO EN ZOOTECNIA**

**EFEECTO ANTIBIÓTICO DEL EUGENOL, PRINCIPIO ACTIVO DEL ACEITE
ESENCIAL DE CLAVO DE OLOR (*Syzygium Aromaticum*) SOBRE CEPAS DE
Salmonella spp.**

EUGENIO PINEDA GUAJAN

TUTOR: Ph.D. MORAIMA CRISTINA MERA AGUAS

IBARRA – ECUADOR

OCTUBRE, 2025

Ibarra, octubre 2025

CERTIFICACIÓN TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo titulado: EFECTO ANTIBIÓTICO DEL eugenol, PRINCIPIO ACTIVO DEL ACEITE ESENCIAL DE CLAVO DE OLOR (*Syzygium Aromaticum*) SOBRE CEPAS DE *Salmonella* spp, presentado por el estudiante EUGENIO PINEDA GUAJÁN con cédula de ciudadanía N°1003577010, para obtener el Título de INGENIERO EN ZOOTECNIA.

Certifico que el trabajo cumple con todos los parámetros establecidos, mediante el cual el estudiante demuestra el desarrollo de competencias en el campo de conocimiento de su profesión con un nivel de argumentación coherente, para ser sometido a la evaluación por parte de los lectores.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de originalidad de TURNITIN.

Tesis Eugenio Pineda

INFORME DE ORIGINALIDAD

2%

INDICE DE SIMILITUD

2%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE



(f): _____

Dra. Moraima Cristina Mera Aguas

TUTOR DE TRABAJO

C.C.: 1001743721

PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El tribunal examinador, aprueba el presente trabajo en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra:



(f):

Moraima Cristina Mera Aguas

C.C.: 1001743721



(f):

Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399



(f):

Mónica Patricia Velastegui Moreno

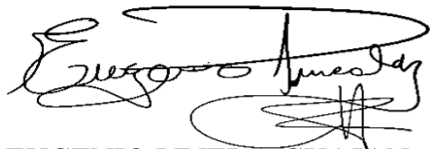
C.C.: 0503323024

.

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo, EUGENIO PINEDA GUAJAN, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 del Código Orgánico de Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derechos de disponer de sus derechos o autorizar las utilidades de sus obras o prestaciones a título gratuito y oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, octubre 2025

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Eugenio Pineda Guajan', with a large, stylized flourish above the name.

EUGENIO PINEDA GUAJAN

C.C.: 1003577010

AUTORÍA

Yo, EUGENIO PINEDA GUAJAN, portador de la cedula de ciudadanía N° 1003577010, declaro que la presente de investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Eugenio Pineda Guajan', with a large, stylized flourish above the name.

EUGENIO PINEDA GUAJAN.

C.C.: 1003577010

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A la vida, por darme la fuerza física, la salud y la claridad mental para seguir construyendo este camino.

A mi familia, por su soporte incondicional, su compañía constante y su apoyo sin límites con su presencia firme, incluso en los momentos más difíciles sin pedir nada a cambio. Ustedes son mi mayor inspiración.

A quienes me acompañaron de cerca o en silencio, por su presencia, su ánimo y su fe en mí, aún en los días más inciertos y desolados.

Y a mí, por no rendirme, por confiar en mi proceso y por demostrarme que las metas se construyen con esfuerzo, paciencia y pasión.

Hoy no escribo estas palabras desde la razón, sino desde lo más hondo del alma. Este logro no es solo mío, es de todos los que caminaron a mi lado, aun cuando no sabían hacia dónde dirigía mi camino.

A mis seres más cercanos, gracias por ser mi hogar incluso en los días más oscuros. Gracias por abrazarme sin hacer preguntas, por sostenerme cuando sentía que todo se desmoronaba, por creer en mí con una fe que a veces ni yo tenía. Su amor fue, mi fuerza silenciosa, mi impulso más real.

A mis amigos, esos que estuvieron en los silencios, en los desahogos, en los descansos breves entre jornadas eternas. Gracias por sus palabras simples que me devolvían el aliento, por su cariño sin explicaciones, por recordarme quién soy cuando me perdía en el cansancio.

Al destino, por poner pruebas que parecían imposibles, pero también por darme las personas y los momentos que me empujaron a continuar. Cada obstáculo me enseñó algo, cada caída me preparó para este momento.

ÍNDICE DE CONTENIDO

CERTIFICACIÓN TUTOR	ii
PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	iii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS.....	iv
AUTORÍA.....	v
DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURA.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO II	3
OBJETIVOS.....	3
2. Objetivo general.....	3
2.1 Objetivos específicos	3
2.2 HIPÓTESIS.....	3
CAPÍTULO III	4
ESTADO DEL ARTE	4
3. Antecedentes de la investigación	4
3.1 Avicultura mundial.....	5
3.2 Avicultura en el ecuador	6
3.3 Descripción de la <i>Salmonella</i> spp.....	7
3.4 Características generales de <i>Salmonella</i> spp.	8
3.5 Uso de enrofloxacinina inyectable en medicina veterinaria frente a <i>Salmonella</i> spp.	10
3.6 Descripción del eugenol.....	12
3.7 Propiedades Farmacológicas del Clavo de Olor en Animales	13
3.8 Propiedades bioactivas	14
3.9 Propiedades antioxidantes	14

3.10	Propiedades analgésicas (Alivio del dolor)	15
3.11	Propiedades digestivas	15
3.12	Propiedades antihelmínticas (Desparasitantes)	15
3.13	Propiedades virales	16
3.14	Propiedades hepatoprotectoras	16
3.15	Propiedades estimulantes del sistema inmunológico	16
3.16	Eugenol contra <i>Salmonella</i> spp.....	17
3.17	Acción antimicrobiana frente a <i>Salmonella</i> spp	19
3.18	Daño a la membrana celular	19
3.19	Inhibición de las síntesis de proteínas y ácidos nucleicos	19
3.20	Interferencia con la pared celular	20
3.21	Interacción con los sitios de unión de enzimas clave	20
3.22	Reducción de la adhesión bacteriana	20
3.23	Mecanismo de acción del clavo de olor.....	20
3.24	Aplicación del eugenol en Sistemas de Producción Aviar.....	21
3.25	Comparación con antibióticos convencionales.....	21
3.26	Innovación y perspectivas futuras	22
3.27	Metodo de extracción de extractos naturales.....	22
3.28	Análisis cromatográfico.....	22
3.29	Beneficios del HPLC en el análisis del eugenol y su caracterización química	23
3.30	Espectros y parámetros de caracterización	24
CAPÍTULO IV		25
MATERIALES Y MÉTODOS		25
4.	Materiales, reactivos, equipos e insumos.....	25
4.1	Material vegetal	25
4.2	Equipos de laboratorio.....	25
4.3	Reactivos	25
4.4	Metodología.....	26
4.5	Técnica de obtención del aceite de clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	26
4.6	Preparación de la Muestra para Análisis de eugenol mediante HPLC:.....	27
4.7	Obtención de la muestra	28
4.8	Metodología para el aislamiento de la bacteria	28
4.9	Prácticas microbiológicas en condiciones controladas en laboratorio.....	29

4.10	Inoculación de la muestra en el medio de cultivo	29
4.11	Observación y descripción de colonias bacterianas aisladas.....	30
4.12	Identificación de la bacteria.....	30
4.13	aislamiento de una colonia pura.....	30
4.14	Determinación de la densidad óptica de <i>Salmonella</i> spp utilizando espectrofotometría como método de análisis microbiológico	31
4.15	Análisis de la sensibilidad de la bacteria <i>Salmonella</i> spp a antibióticos mediante microdilución con eugenol obtenido del aceite esencial de clavo de olor <i>Syzygium aromaticum</i>	31
4.16	Análisis estadístico	32
4.17	Variables.....	33
	Variables independientes	33
	Variables dependientes	33
CAPÍTULO V.....		35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		35
5.	Caracterización del eugenol por HPLC	35
5.1	Caracterización bacteriana	36
5.2	Efectos del eugenol sobre <i>salmonella</i> spp, y determinación de la concentración mínima inhibitoria.....	38
5.3	Prueba de normalidad de Shapiro – Wilk y Homocedasticidad de varianza de levene.....	39
5.4	Análisis de varianza de la variable porcentaje de inhibición bacteriana mediante la aplicación de dosis eugenol principal compuesto del clavo de olor <i>Syzygium aromaticum</i> sobre la bacteria <i>Salmonella</i> spp.	40
5.5	Análisis de comparación múltiple de medias (Prueba de Tukey) para el porcentaje de inhibición bacteriana mediante la aplicación de dosis de eugenol, compuesto principal del clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>), sobre <i>Salmonella</i> spp.....	41
CAPÍTULO VI.....		45
CONCLUSIONES.....		45
CAPÍTULO VII.....		46
RECOMENDACIONES.....		46
CAPÍTULO VIII.....		47
REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA.....		47
ANEXOS		52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Serotipos de <i>Salmonella spp</i> , y sus efectos en aves de corral.....	10
Tabla 2 Tratamientos efectuados y concentraciones estudiadas en cada tratamiento.....	34
Tabla 3 Esquema de ANOVA.....	34
Tabla 4 Resultados de la caracterización química del aceite esencial del clavo de olor por HPLC	36
Tabla 5 Características fenotípicas de las bacterias aisladas de carne de pollo compatibles con <i>Salmonella spp</i> , en agar MacConkey.....	37
Tabla 6 Porcentaje de Inhibición bacteriano del eugenol principal compuesto del aceite esencial de clavo de olor.....	39
Tabla 7 Prueba de normalidad y homocedasticidad	40
Tabla 8 Análisis de varianza de la variable inhibición bacteriana del eugenol principal compuesto del clavo de olor <i>Syzygium aromaticum</i> sobre la bacteria <i>Salmonella spp</i>	41

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1 Análisis cromatográfico del eugenol caracterización espectral y evaluación de su pureza	24
Figura 2 Cultivo de la bacteria <i>salmonella</i> spp en agar MacConkey	38
Figura 3 Porcentaje de inhibición de <i>Salmonella</i> spp. frente a diferentes concentraciones de eugenol.....	41

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Documentación fotografiada del desarrollo investigativo	52
--	----

RESUMEN

El aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) es reconocido por sus propiedades, las cuales se atribuyen principalmente a su compuesto bioactivo, el eugenol. Este compuesto ha mostrado una amplia variedad de efectos, incluidos sus beneficios antibióticos. Este estudio se centró en evaluar el efecto inhibitorio del eugenol en diferentes dosis sobre *Salmonella* spp., una bacteria patógena que causa infecciones gastrointestinales severas. Estas infecciones representan un riesgo significativo para la aviar, especialmente en áreas con condiciones sanitarias deficientes, lo que hace urgente la búsqueda de tratamientos antimicrobianos eficaces (Parra, 2002). La salmonelosis es una de las enfermedades bacterianas más relevantes en la avicultura, con impacto directo en la salud animal y la seguridad alimentaria. Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del eugenol, principio activo del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) sobre cepas de *Salmonella* spp. Para ello, se utilizó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con el fin de caracterizar y cuantificar el compuesto, obteniendo una concentración de 85,25%. Se prepararon tres grupos experimentales con dosis baja, media y alta de eugenol, los cuales fueron aplicados a cultivos bacterianos para evaluar su capacidad inhibidora. Los resultados demostraron que todas las concentraciones generaron una inhibición significativa del crecimiento bacteriano, especialmente con dosis medias y elevadas. Estos hallazgos evidencian el potencial del eugenol como una alternativa natural y efectiva para el control de *Salmonella* spp., en la producción avícola, lo que permitiría reducir el uso de antibióticos convencionales y enfrentar el problema creciente de la resistencia bacteriana.

Palabras clave: *Salmonella* spp, salmonelosis, clavo de olor, *Syzygium Aromaticum*, eugenol

ABSTRACT

The essential oil of clove (*Syzygium aromaticum*) is well recognized for its bioactive properties, which are primarily attributed to its main constituent, eugenol. This compound has demonstrated a wide array of biological effects, including notable antibiotic benefits. The present study focused on assessing the inhibitory effect of eugenol at varying concentrations against *Salmonella* spp., a pathogenic bacterium responsible for severe gastrointestinal infections. These infections pose a significant threat to poultry health, particularly in regions with inadequate sanitary conditions, underscoring the urgent need for effective antimicrobial interventions (Parra, 2002). *Salmonellosis* ranks among the most consequential bacterial diseases in poultry production, directly impacting animal health and food safety. This investigation aimed to evaluate the antibacterial activity of eugenol, the active principle of clove essential oil, against *Salmonella* spp. strains. High-performance liquid chromatography (HPLC) was employed to characterize and quantify the compound, achieving a purity concentration of 85.25%. Three experimental groups were established, corresponding to low, medium, and high doses of eugenol, which were subsequently applied to bacterial cultures to determine their inhibitory capacity. The results indicated that all tested concentrations significantly suppressed bacterial growth, with medium and high doses exhibiting the most pronounced effects. These findings highlight the considerable potential of eugenol as a natural and efficacious alternative for controlling *Salmonella* spp., in poultry production systems, which could contribute to reducing reliance on conventional antibiotics and addressing the escalating issue of bacterial resistance.

Keywords: *Salmonella* spp., *salmonellosis*, clove, *Syzygium aromaticum*, eugenol

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La salmonelosis, causada por bacterias del género *Salmonella*, ha sido históricamente una de las principales amenazas sanitarias en los sistemas de producción avícola. Su elevada prevalencia en gallinas ponedoras y pollos de engorde ha comprometido tanto la salud de las aves como la rentabilidad del sector, generando pérdidas económicas relacionadas con la disminución en la productividad, el aumento en los costos de tratamiento y las restricciones comerciales impuestas por razones sanitarias. Además, se ha documentado que las aves pueden actuar como portadoras asintomáticas, liberando grandes cantidades del patógeno al ambiente a través de sus excretas, lo que perpetúa la contaminación en los sistemas productivos (Núñez & Díaz, 2022).

Los sistemas intensivos de producción han mostrado una mayor incidencia de *Salmonella* spp. Situación agravada por el uso indiscriminado de antibióticos, lo que ha favorecido el desarrollo de cepas resistentes. Esta problemática representa una preocupación creciente para la sanidad animal y la inocuidad alimentaria. Según Díaz Soto (2022), la resistencia bacteriana constituye una de las amenazas más serias para la salud pública veterinaria actual, especialmente en relación con patógenos como *Salmonella* spp., responsables de infecciones gastrointestinales masivas en aves. Ante esta realidad, ha surgido un creciente interés por estrategias sostenibles que reduzcan la dependencia de antibióticos convencionales.

Entre las alternativas propuestas, el uso de compuestos naturales con actividad antimicrobiana ha cobrado relevancia. El eugenol, un compuesto fenólico presente en altas concentraciones en el aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), ha sido ampliamente estudiado por su capacidad antibacteriana frente a una variedad de microorganismos, incluyendo *Salmonella* spp. (Turgis et al., 2009; Núñez y Díaz, 2022; Munishama Gowda et al., 2024). Su potencial para disminuir la carga bacteriana en entornos avícolas y su papel como coadyuvante en la reducción del uso de antibióticos han sido documentados en diversos estudios (Díaz Soto, 2022).

Adicionalmente, la vigilancia epidemiológica ha desempeñado un papel crucial en la detección y control de *Salmonella* spp. Investigaciones como la de Parra (2002), han resaltado la

importancia de establecer sistemas eficaces de monitoreo sanitario que permitan identificar tempranamente brotes de infección y prevenir la contaminación cruzada. Del mismo modo, el enfoque preventivo basado en buenas prácticas, monitoreo sistemático y el uso de alternativas naturales ha sido reconocido como clave para contener la diseminación del patógeno y fortalecer la bioseguridad en la producción avícola (Loaiza et al., 2011).

En este contexto, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto antibacteriano del eugenol sobre cepas de *Salmonella* spp. Mediante ensayos microbiológicos in vitro. El estudio analizó la actividad antimicrobiana del compuesto, exploró posibles mecanismos de acción y estableció comparaciones con antibióticos convencionales. Los resultados permitieron determinar su eficacia como agente terapéutico natural, aportando evidencia científica que respalda el uso del eugenol como una herramienta potencial para mejorar la bioseguridad en sistemas avícolas y contribuir a la mitigación de la resistencia bacteriana.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2. Objetivo general

Evaluar el efecto antibiótico del eugenol, principal compuesto activo del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium Aromaticum*), sobre cepas de *Salmonella* spp., mediante ensayos in vitro, para determinar su potencial como alternativa natural en el control de la bacteria *Salmonella* spp.

2.1 Objetivos específicos

- Caracterizar el principio activo del aceite de clavo de olor eugenol mediante técnicas analíticas de HPLC
- Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del eugenol frente a cepas de *Salmonella* spp., en condiciones controladas de laboratorio.

2.2 HIPÓTESIS

Ho: El eugenol, compuesto activo del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), no presenta efecto sobre cepas de *Salmonella* spp., en condiciones in vitro.

Ha: El eugenol compuesto activo del aceite de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), presenta efecto sobre cepas de *Salmonella* spp., en condiciones in vitro.

CAPÍTULO III

ESTADO DEL ARTE

3. Antecedentes de la investigación

Diversos estudios han demostrado que el eugenol, principal componente del aceite esencial de clavo, posee propiedades antimicrobianas significativas debido a su capacidad de alterar la membrana celular bacteriana y afectar la formación de biofilms, lo que lo convierte en un candidato prometedor para el control de patógenos en la producción avícola (Marchese et al., 2017; Dorman y Deans, 2020). Este compuesto fenólico actúa principalmente mediante la disrupción de la integridad de la membrana celular, provocando fugas de contenido intracelular y finalmente la muerte bacteriana. A diferencia de muchos antibióticos convencionales, el eugenol no se centra en una única diana molecular, lo que le otorga un amplio espectro de acción y reduce la probabilidad de que las bacterias desarrollen resistencia de forma rápida. En consecuencia, su empleo se ha convertido en una de las líneas de investigación más destacadas en el ámbito de los aceites esenciales, especialmente en relación con la inocuidad alimentaria y la producción animal.

En este contexto, la salmonelosis continúa siendo una de las enfermedades bacterianas más críticas en aves de corral, no solo por su alta prevalencia, sino también por las pérdidas económicas asociadas y los riesgos para la salud pública, por lo que resulta necesario explorar alternativas naturales eficaces (Gaggia et al., 2019). El problema no se limita al impacto en la productividad de las granjas avícolas, sino también a las restricciones comerciales derivadas de brotes de *Salmonella*, que generan importantes pérdidas económicas a escala global. De hecho, el control de esta bacteria constituye uno de los principales retos de la industria avícola moderna. En este sentido, compuestos de origen vegetal como el eugenol representan una alternativa estratégica, ya que, además de reducir la colonización intestinal de *Salmonella*, ayudan a preservar la microbiota, elemento esencial para mantener la salud y el rendimiento de las aves.

La resistencia antimicrobiana, considerada una de las mayores amenazas para la sanidad animal, ha impulsado la búsqueda de compuestos naturales como el eugenol, que han demostrado eficacia frente a cepas de *Salmonella* spp., al tiempo que contribuyen a reducir la dependencia de antibióticos convencionales (Upadhyay et al., 2017; Chouhan et al., 2019). El abuso y uso indiscriminado de antibióticos en sistemas intensivos de producción ha generado la aparición de cepas multirresistentes que dificultan el control de infecciones y ponen en riesgo la salud pública.

Frente a ello, el eugenol se posiciona como una alternativa prometedora no solo por sus efectos bactericidas, sino también porque su compleja estructura y mecanismos múltiples de acción hacen menos probable la emergencia de resistencia bacteriana. De esta manera, su aplicación puede considerarse parte de una estrategia integral de manejo sanitario que reduzca la dependencia de antimicrobianos sintéticos.

Además, investigaciones recientes reportan que la suplementación dietética con eugenol en pollos no solo disminuye la carga bacteriana intestinal y en órganos como hígado y bazo, sino que también mejora parámetros productivos e incrementa la integridad de la barrera intestinal mediante la regulación de proteínas de unión estrecha (Zhang et al., 2022; Peng et al., 2022). Esto implica que su uso no se limita a la acción antimicrobiana directa, sino que también contribuye a optimizar la fisiología intestinal y la salud general de las aves, favoreciendo una mayor ganancia de peso y eficiencia en la conversión alimenticia. De hecho, los resultados experimentales confirman que el eugenol tiene un efecto inmunomodulador, pues participa en la modulación de vías inflamatorias clave, como la inhibición, con lo cual reduce la expresión de citoquinas proinflamatorias. Esta acción se traduce en una menor inflamación intestinal y en una mayor capacidad de los animales para enfrentar desafíos sanitarios.

En consecuencia, la implementación de aceites esenciales como el eugenol no solo fortalece la bioseguridad y competitividad en el sector avícola, sino que también se alinea con los Objetivos de Desarrollo Sostenible al promover un modelo de producción responsable, saludable y ambientalmente sostenible (Dahiya et al., 2020). Su uso reduce la acumulación de residuos de antibióticos en los ecosistemas, contribuyendo a disminuir la contaminación ambiental y favoreciendo un sistema productivo más respetuoso con la salud humana y animal. A la par, la incorporación de estas estrategias naturales permite responder a la creciente demanda de los consumidores por productos avícolas más seguros y libres de antibióticos, lo que representa una ventaja competitiva para los productores. Así, el eugenol se perfila como un recurso estratégico en la transición hacia una avicultura sostenible, innovadora y acorde a las exigencias de los mercados internacionales.

3.1 Avicultura mundial

La carne de pollo se ha consolidado como una de las principales fuentes de proteína animal a nivel mundial, debido a factores como su bajo costo de producción, accesibilidad, valor

nutricional y elevada eficiencia en la conversión de alimento. Para 2024, se proyectó una producción global cercana a 146 millones de toneladas, con un crecimiento anual estimado del 3 % hasta 2030 (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos [OECD] & Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2024). Entre los mayores productores y consumidores destacan Estados Unidos, China y Brasil, cada uno con más de 15 millones de toneladas anuales (Ritchie y Roser, 2020). En términos de consumo per cápita, Estados Unidos registra aproximadamente 48 kg por habitante, Brasil alcanza 44 kg, Sudáfrica 37 kg y México alrededor de 36,8 kg (Zahniser y Hansen, 2024). En América Latina, el aporte de países como Colombia, Perú y Ecuador resulta relevante para la seguridad alimentaria regional, dado el alto nivel de consumo avícola (Delgado et al., 2021). En Asia, la situación es heterogénea: China muestra un consumo per cápita de 17,3 kg, mientras que la India apenas llega a 2,5 kg, en gran parte por condicionantes culturales y económicos (OECD y FAO, 2024). En Egipto, por el contrario, el consumo ha aumentado de forma acelerada en los últimos diez años, reflejando un cambio en los patrones dietéticos (FAO, 2023). La región Asia-Pacífico también evidencia un incremento de la demanda, impulsado por la urbanización y modificaciones en los hábitos de consumo; sin embargo, en países desarrollados emergen preocupaciones relacionadas con la sostenibilidad ambiental, el bienestar animal y la utilización de antibióticos, lo que podría favorecer la incorporación de proteínas alternativas (Godfray et al., 2018). Desde la perspectiva sanitaria, la intensificación de la industria avícola ha incrementado el riesgo de enfermedades infecciosas, siendo la salmonelosis una de las más relevantes a nivel mundial. *Salmonella* spp. constituye uno de los principales patógenos asociados a brotes de origen alimentario que afectan tanto a animales como a seres humanos. De acuerdo con la OMS (2023), se notifican millones de casos cada año, muchos vinculados al consumo de productos avícolas contaminados, lo que ha impulsado el refuerzo de medidas de bioseguridad y vigilancia en los sistemas intensivos de producción (Bäumler, 2020; Wigley, 2020).

3.2 Avicultura en el Ecuador

En Ecuador, la producción avícola constituye un componente esencial del sistema agropecuario, destacándose la carne de pollo como la principal fuente de proteína de origen animal para la población. El consumo per cápita, que tradicionalmente se ubicaba en torno a los 28 kg anuales, alcanzó en 2023 los 30 kg, recuperando así los niveles previos a la pandemia (Espinel et

al., 2022). Durante la última década, el sector ha mostrado un crecimiento constante, con una producción aproximada de 263 millones de pollos en 2022, equivalente a un incremento del 3,14 % respecto al año anterior, respaldado por la consolidación de más de 1.400 granjas avícolas en el país (Cevallos et al., 2021). Actualmente, la carne de pollo supera al cerdo (11 kg per cápita) y a la res (10 kg per cápita) como proteína de mayor consumo, lo que evidencia no solo una preferencia alimentaria marcada, sino también la relevancia socioeconómica del sector, que aporta significativamente a la generación de empleo (Castillo y Paredes, 2020). Sin embargo, este auge también ha venido acompañado de desafíos en materia de sanidad animal y salud pública.

Investigaciones locales han identificado la circulación de *Salmonella* spp., en diferentes eslabones de la cadena avícola, desde las granjas hasta los puntos de expendio, situación favorecida por la intensificación de los sistemas productivos y condiciones de bioseguridad insuficientes (Paredes et al., 2021; Villacís et al., 2023). Además, el uso indiscriminado de antibióticos en algunos casos ha favorecido la aparición de cepas multirresistentes, lo que ha generado preocupación tanto en el ámbito nacional como internacional (Espinel et al., 2022). En consecuencia, las autoridades y la academia han promovido normativas más rigurosas sobre el uso de antimicrobianos y se han impulsado estudios sobre alternativas naturales, destacando los aceites esenciales como el eugenol, con el fin de reducir la presencia bacteriana sin fomentar resistencia (Guamán et al., 2023). Así, la exploración de compuestos naturales como el eugenol representa una estrategia clave para robustecer la bioseguridad, garantizar la inocuidad alimentaria y contribuir al desarrollo sostenible del sector avícola ecuatoriano en sintonía con las demandas globales de producción responsable.

3.3 Descripción de la *Salmonella* spp

Salmonella spp., es un género de bacterias Gram negativas, aerobias facultativas, que comúnmente forman parte de los microorganismos del intestino de diversos animales, incluyendo aves domésticas y silvestres. Sin embargo, ciertas especies dentro de este género son patógenas y pueden causar enfermedades significativas en las poblaciones avícolas. La infección por *Salmonella* en aves puede variar desde cuadros clínicos asintomáticos hasta manifestaciones clínicas severas que impactan negativamente en el bienestar y la productividad de los animales (Barrow y Methner, 2013).

Entre las especies y serotipos de *Salmonella* más relevantes para la industria avícola destacan *Salmonella enterica*, y sus diversos serotipos, como *Salmonella Enteritidis* y *Salmonella Typhimurium*, responsables de la mayoría de los brotes de salmonelosis en aves. Estas bacterias poseen mecanismos para invadir el epitelio intestinal, multiplicarse en él y en algunos casos diseminarse a órganos internos, generando infecciones sistémicas que comprometen la salud del ave y la seguridad alimentaria (Gantois et al., 2009; Foley et al., 2011).

La salmonelosis aviar representa un problema sanitario y económico considerable en la producción de aves de corral, dado su potencial para contaminar productos alimenticios derivados, principalmente huevos y carne, lo que también implica un riesgo para la salud pública. En aves adultas, la infección suele ser subclínica, con aves portadoras que eliminan la bacteria a través de las heces sin mostrar signos clínicos evidentes, favoreciendo la diseminación silenciosa dentro de las explotaciones. Por otro lado, en pollitos y aves jóvenes la enfermedad puede presentar síntomas más severos como diarrea, letargo, anorexia, fiebre y un aumento en la mortalidad (Timoney, 2020; Bouldin et al., 2004).

La vía fecal-oral constituye el principal mecanismo de transmisión, en la cual las aves se infectan mediante la ingesta de alimentos, agua o contacto con superficies contaminadas con materia fecal infectada. Las condiciones de hacinamiento en granjas concentradas y la falta de medidas adecuadas de bioseguridad contribuyen a la rápida propagación de la bacteria (Wigley, 2013).

El tratamiento con antibióticos puede ser efectivo, pero la creciente resistencia bacteriana a los antimicrobianos representa un desafío significativo. Por ello, la prevención y el control mediante estrategias integrales son esenciales. Estas incluyen la implementación de buenas prácticas de manejo, programas de vacunación, control estricto de la higiene y desinfección de las instalaciones, así como la vigilancia continua para la detección temprana y manejo adecuado de los focos de infección (Barrow y Methner, 2013; Wigley, 2013).

3.4 Características generales de *Salmonella* spp.

La especie *Salmonella enterica* se subdivide en seis subespecies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica*, con más de 2.600 serotipos identificados. La subespecie *enterica* predomina en humanos y animales de sangre caliente, incluidos aves, cerdos y bovinos,

mientras que las otras subespecies habitan principalmente reptiles y ambientes externos, con menor virulencia en humanos (Brenner et al., 2000).

Algunos serotipos como *Salmonella gallinarum* y *Salmonella typhi* están estrictamente adaptados a huéspedes específicos aves y humanos, respectivamente mientras que otros, como *Salmonella typhimurium* y *Salmonella enteritidis*, tienen un amplio rango de hospedadores que incluye aves, mamíferos y reptiles (Grimont y Weill, 2007).

Desde el punto de vista epidemiológico, la salmonelosis es una enfermedad zoonótica transmitida principalmente por el consumo de alimentos contaminados de origen animal, como huevos, carne y leche. La infección ocurre al consumir productos crudos o mal cocidos, que permiten la supervivencia y proliferación de la bacteria en el huésped (Scallan et al., 2011).

Los animales domésticos actúan como reservorios importantes en la transmisión de *Salmonella*, siendo la infección principalmente horizontal mediante contacto con fuentes contaminadas. Vectores como insectos, roedores, aves silvestres e incluso humanos diseminan la bacteria a través de sus excretas, contaminando agua, alimentos y superficies, lo que facilita un ciclo de reinfección continuo. Esta contaminación cruzada representa un riesgo sanitario significativo tanto para los animales como para la inocuidad alimentaria (Dixon et al., 2022).

Tabla 1

Serotipos de *Salmonella* spp. y sus efectos en aves de corral

Serotipo de <i>Salmonella</i> spp.	Especie aviar afectada	Enfermedad que causa	Observaciones
<i>Salmonella Gallinarum</i>	Gallinas, pavos	Tifosis aviar	Alta mortalidad, septicemia; transmisión vertical y horizontal
<i>Salmonella Pullorum</i>	Pollos, pavos	Pullorosis	Alta mortalidad en pollitos, transmisión por huevo
<i>Salmonella Enteritidis</i>	Gallinas, otras aves	Salmonelosis paratifoidea (zoonosis)	Portadoras asintomáticas; puede contaminar huevos y carne
<i>Salmonella Typhimurium</i>	Aves de corral, silvestres	Paratifoidea aviar (zoonosis)	Zoonótica; menos patógena en aves, pero causa enfermedad en humanos
<i>Salmonella Heidelberg</i>	Gallinas, pavos	Infecciones intestinales y sistémicas	Aumenta en producción avícola; zoonótica, común en brotes alimentarios
<i>Salmonella Infantis</i>	Gallinas, pavos	Enteritis, colonización intestinal	Resistencia antimicrobiana emergente, transmisión a humanos

Nota. Esquema representativo del ciclo de infección y transmisión de *Salmonella* en aves de corral. Adaptado de Gast, R. K., & Holt, P. S. (2000). *Salmonella enteritidis* infections in laying hens. In C. Wray & A. Wray (Eds.), *Salmonella in domestic animals* (pp. 471–486). CABI Publishing; Shivaprasad, H. L. (2000). *Pullorum disease and fowl typhoid*. In C. Wray & A. Wray (Eds.), *Salmonella in domestic animals* (pp. 405–420). CABI Publishing; y Centers for Disease Control and Prevention. (2023, March 15). *Salmonella and food*. U.S. Department of Health and Human Services. <https://www.cdc.gov/salmonella/>

3.5 Uso de enrofloxacinina inyectable en medicina veterinaria frente a *Salmonella* spp

La enrofloxacinina es un antimicrobiano bactericida del grupo de las fluoroquinolonas, desarrollado específicamente para uso veterinario. Su empleo se ha consolidado en la práctica clínica por su eficacia frente a bacterias Gram negativas y algunas Gram positivas, incluyendo agentes zoonóticos como *Salmonella* spp. (Giguère et al., 2013). El mecanismo de acción de la

enrofloxacin se basa en la inhibición irreversible de dos enzimas fundamentales para la supervivencia bacteriana: el ADN girasa (topoisomerasa II) y la topoisomerasa IV, las cuales son esenciales para el superenrollamiento del ADN y la segregación cromosómica durante la replicación (Martínez et al., 2006). Esta doble inhibición confiere a las fluoroquinolonas un efecto letal sobre bacterias en fase activa de crecimiento, lo cual reduce significativamente la carga microbiana sistémica.

La formulación inyectable de enrofloxacin permite alcanzar rápidamente concentraciones terapéuticas elevadas en sangre y tejidos profundos, gracias a su alta biodisponibilidad, buena penetración tisular y vida media prolongada. Estas características farmacocinéticas hacen que sea especialmente útil en el tratamiento de infecciones sistémicas causadas por *Salmonella spp.*, como las formas septicémicas en animales jóvenes, o las infecciones entéricas complicadas en aves, porcinos y rumiantes (Giguère et al., 2013). Además, la administración parenteral facilita un control preciso de la dosis en situaciones clínicas graves o cuando el estado del animal impide la vía oral.

El uso de enrofloxacin en medicina veterinaria debe estar estrictamente regulado debido a que uno de sus metabolitos activos, la ciprofloxacina, pertenece a la familia de fluoroquinolonas, medicamentos críticos para la salud humana. Esta relación metabólica genera preocupaciones significativas sobre la posible resistencia cruzada entre bacterias zoonóticas, como *Salmonella spp.*, que pueden transmitirse a través del contacto directo con animales infectados o mediante el consumo de productos de origen animal contaminados (European Medicines Agency [EMA], 2021). Por esta razón, las agencias regulatorias recomiendan limitar el empleo de fluoroquinolonas en animales de producción, especialmente en ausencia de un antibiograma que respalde su uso terapéutico (World Organisation for Animal Health [WOAH], 2022).

Aunque la enrofloxacin inyectable es una herramienta terapéutica eficaz contra infecciones causadas por *Salmonella spp.* Su administración debe ser cuidadosamente seleccionada, aplicando criterios microbiológicos claros y bajo una perspectiva integrada de salud pública, animal y ambiental conocida como One Health. Este enfoque reconoce la interdependencia entre la salud humana, la salud animal y el medio ambiente para evitar la propagación de resistencia antimicrobiana y proteger la eficacia futura de estos fármacos esenciales (Guardabassi et al., 2018; EMA, 2021).

3.6 Descripción del eugenol

El eugenol es un compuesto fenólico natural que constituye el principal componente bioactivo presente en el aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), representando entre el 70% y el 90% de su composición total. Químicamente, se identifica como 4-alil-2-metoxifenol, con fórmula molecular $C_{10}H_{12}O_2$ y un peso molecular de 164,20 g/mol. Su estructura molecular destaca por un anillo aromático con un grupo hidroxilo ($-OH$) en posición orto respecto a un grupo metoxi ($-OCH_3$), además de contener un grupo alil ($-CH_2-CH=CH_2$), configuración que es clave para sus propiedades biológicas (Bakkali et al., 2008).

Desde la perspectiva fitoquímica, *Syzygium aromaticum* ha sido ampliamente estudiado por su abundante contenido en metabolitos secundarios, tales como ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, flavonoides y compuestos derivados del hidroxifenilo. Entre estos, el eugenol resalta no solo por su notable concentración, sino también por su amplia gama de actividades farmacológicas, incluidas propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes (Pramod et al., 2010). Reportes analíticos realizados mediante técnicas como la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) han establecido que la concentración de eugenol en aceites esenciales de alta calidad suele oscilar entre 70% y 85%, dependiendo del método de extracción y la procedencia geográfica de la planta (Pavela, 2015).

En el ámbito microbiológico, el eugenol presenta una potente actividad bactericida contra una diversidad de patógenos relevantes, tales como *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Su mecanismo principal de acción consiste en alterar la permeabilidad de la membrana citoplasmática de las bacterias, lo que conduce a la pérdida de integridad estructural, fuga de iones esenciales, ATP y proteínas intracelulares. Adicionalmente, se ha observado que eugenol puede inhibir la replicación del ADN bacteriano y modular la actividad de enzimas críticas para la supervivencia y proliferación bacteriana (Gill et al., 2006; Du et al., 2015).

Además, uno de los efectos más relevantes de este compuesto es su capacidad para interferir en la formación y mantenimiento de biofilms bacterianos, estructuras multicelulares que protegen a las bacterias frente a tratamientos antimicrobianos convencionales. Esto posiciona al eugenol como una herramienta potencial para combatir infecciones crónicas y persistentes en

entornos productivos, por ejemplo, en granjas avícolas, donde el control de microorganismos resistentes es un desafío creciente (Kerekes et al., 2013).

En el contexto del presente estudio, la concentración de eugenol determinada por HPLC fue de 85,25%, un valor que refleja la pureza del compuesto utilizado y respalda su eficacia biológica. Esta concentración es congruente con los rangos óptimos reportados en la literatura para conseguir efectos antimicrobianos significativos sin provocar toxicidad relevante en los organismos tratados (Pramod et al., 2010).

Por tanto, el eugenol no solo destaca como un fitoquímico valioso desde el punto de vista farmacológico, sino que también se presenta como una alternativa sostenible, económica y eficaz para la prevención y control de enfermedades bacterianas en la industria avícola, especialmente en el contexto actual de preocupación mundial por la resistencia a los antimicrobianos (Bakkali et al., 2008; Kerekes et al., 2013).

3.7 Propiedades Farmacológicas del Clavo de Olor en Animales

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) es conocido por sus múltiples propiedades farmacológicas, entre las cuales destaca su notable actividad antimicrobiana. Su aceite esencial, rico en eugenol, posee efectos bactericidas, fungicidas y virucidas que lo hacen efectivo para el tratamiento de infecciones en animales, incluyendo aquellas que afectan la piel, el tracto gastrointestinal y el sistema respiratorio. Estudios han demostrado que el clavo de olor es eficaz contra patógenos comunes en animales como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Candida albicans*. Esta actividad antimicrobiana se explica principalmente por la capacidad del eugenol para comprometer la integridad de las membranas celulares de estos microorganismos, lo que conduce a su destrucción (Bakkali et al., 2008; Marchese et al., 2017).

Además, el aceite esencial de clavo de olor presenta propiedades analgésicas que pueden ser de gran valor en el manejo del dolor en medicina veterinaria. El eugenol ejerce efectos analgésicos mediante un mecanismo diferente al de los opioides, modulando la percepción del dolor a través de la inhibición de la liberación de mediadores inflamatorios. En modelos preclínicos, se ha observado la capacidad del clavo para aliviar el dolor asociado con lesiones, artritis y otras condiciones inflamatorias, lo que lo posiciona como una alternativa natural prometedora para el control del dolor en animales (Santos et al., 2019; Silva et al., 2020).

Las propiedades antiinflamatorias del clavo de olor también contribuyen a su utilidad clínica. El eugenol inhibe la actividad de enzimas claves implicadas en la inflamación, como la

ciclooxigenasa (COX), lo que reduce la síntesis de prostaglandinas, mediadores que amplifican la respuesta inflamatoria. Este efecto es beneficioso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas y agudas en animales, incluyendo afecciones articulares, respiratorias y autoinmunes (Pramod et al., 2010; Silva et al., 2020).

Otro aspecto relevante del clavo de olor es su capacidad antioxidante. Los compuestos fenólicos que contiene, especialmente el eugenol, neutralizan los radicales libres, moléculas inestables relacionadas con el envejecimiento celular y la progresión de enfermedades crónicas como las cardiovasculares y el cáncer. La reducción del estrés oxidativo mediante el uso de clavo puede ayudar a preservar la salud general y el bienestar de los animales, así como a prevenir enfermedades degenerativas (Viuda-Martos et al., 2010).

En cuanto a sus efectos sobre el sistema gastrointestinal, el aceite esencial de clavo posee propiedades carminativas que alivian problemas digestivos al reducir la formación de gases y mejorar la motilidad intestinal. Esta acción resulta especialmente útil en animales que presentan cólicos, distensión abdominal u otros trastornos digestivos. Además, el clavo estimula la secreción de jugos gástricos, favoreciendo la digestión y la absorción de nutrientes esenciales para una adecuada nutrición y salud general (Charulatha y Shakunthala, 2013; De Araújo et al., 2021).

3.8 Propiedades bioactivas

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), es conocido por sus diversas propiedades bioactivas, que se deben principalmente a su composición química, especialmente al compuesto principal llamado eugenol (Batiha et al., 2020).

3.9 Propiedades antioxidantes

El eugenol, principal compuesto del aceite esencial de clavo de olor, posee destacadas propiedades antioxidantes que resultan fundamentales para la protección celular en pollos. Estos compuestos bioactivos neutralizan los radicales libres presentes en el organismo, las moléculas reactivas que producen daño oxidativo a las células, vinculado al envejecimiento prematuro y a la aparición de enfermedades crónicas, incluyendo trastornos metabólicos y cardiovasculares. La neutralización de estos radicales libres por parte del eugenol ayuda a preservar la integridad celular y fortalece el sistema inmunológico de las aves. Además, su acción antioxidante favorece la reparación y recuperación de tejidos lesionados, acelerando procesos de curación tras heridas o

infecciones y mejorando la resistencia global a enfermedades degenerativas y asociadas con la edad (Hussain et al., 2017; Singh et al., 2019).

3.10 Propiedades analgésicas (Alivio del dolor)

Históricamente utilizado por sus efectos anestésicos y analgésicos, el clavo de olor, a través de su principio activo eugenol, representa una alternativa natural eficaz para el control del dolor en pollos. El eugenol ejerce un potente efecto al bloquear la transmisión nerviosa de las señales dolorosas, proporcionando alivio tanto en casos de dolor agudo como crónicos asociados a lesiones, infecciones o traumatismos. Además, su efecto analgésico complementa sus propiedades antiinflamatorias, facilitando el manejo de molestias relacionadas con enfermedades inflamatorias como la artritis aviar y procesos respiratorios infecciosos. Este alivio del dolor no solo mejora el bienestar animal, sino que también contribuye a acelerar la recuperación, manteniendo la salud y productividad de las aves (Santos et al., 2019; Gill y Holley, 2006).

3.11 Propiedades digestivas

El clavo de olor es conocido por sus propiedades digestivas, y su aceite esencial tiene efectos beneficiosos en la salud gastrointestinal de los pollos. Este compuesto estimula la secreción de enzimas digestivas, lo que mejora la descomposición de los alimentos y facilita la absorción de nutrientes esenciales. Además, el clavo de olor tiene propiedades carminativas, lo que significa que ayuda a aliviar la hinchazón, los cólicos y la formación excesiva de gases en el tracto intestinal de los pollos. Este efecto es especialmente útil en situaciones donde los pollos experimentan problemas digestivos, como distensión abdominal o malestar causado por infecciones gastrointestinales o dietas inadecuadas. Al mejorar la motilidad intestinal y reducir la acumulación de gases, el clavo de olor contribuye a un proceso digestivo más eficiente y cómodo, promoviendo la salud digestiva general y el bienestar de los pollos (Mendoza, 2021).

3.12 Propiedades antihelmínticas (Desparasitantes)

El clavo de olor ha sido tradicionalmente utilizado para tratar infecciones parasitarias en animales de granja, como los pollos. Sus compuestos activos, particularmente el eugenol, poseen propiedades antihelmínticas que interfieren con el metabolismo de parásitos intestinales como nematodos y cestodos. Esta alteración limita la alimentación y reproducción de los parásitos en el tracto digestivo, mientras que su capacidad para modificar la membrana celular de los parásitos

facilita su eliminación (Raja et al., 2022). Su uso permite reducir la carga parasitaria, mejorando la absorción de nutrientes y contribuyendo al bienestar y rendimiento productivo, especialmente en sistemas de producción orgánica que evitan tratamientos químicos agresivos (Barrau-Pérez et al., 2023).

3.13 Propiedades virales

El clavo de olor presenta propiedades antivirales relevantes para el manejo de infecciones virales en pollos. Eugenol, su compuesto principal, puede inhibir la replicación de virus que afectan al sistema respiratorio aviar, como ciertos herpesvirus y reovirus, modulando al mismo tiempo el sistema inmunológico para fortalecer las defensas naturales (Zhao et al., 2023). Además, su actividad antiinflamatoria alivia síntomas respiratorios asociados a las infecciones virales, reduciendo complicaciones secundarias y promoviendo una recuperación más eficiente, con un impacto positivo sobre la salud y productividad aviar (Carrasco et al., 2020).

3.14 Propiedades hepatoprotectoras

El clavo de olor actúa como un agente hepatoprotector, protegiendo el hígado de los daños causados por toxinas ambientales, contaminantes alimentarios e infecciones. Sus compuestos fenólicos, especialmente el eugenol, disminuyen el estrés oxidativo hepático y previenen la degeneración celular, apoyando la función hepática. Asimismo, estimulan la regeneración celular y reparación de tejidos, facilitando la recuperación de pollos expuestos a toxinas o enfermedades hepáticas, lo que repercute positivamente en su rendimiento y bienestar general (Kumar et al., 2022; Wang et al., 2023).

3.15 Propiedades estimulantes del sistema inmunológico

El clavo de olor es una fuente abundante de compuestos bioactivos, destacando el eugenol, que influye positivamente en la modulación del sistema inmunológico de los pollos. Estos compuestos fortalecen las defensas naturales del organismo, mejorando la capacidad inmunitaria para detectar y combatir agentes patógenos como bacterias, virus y parásitos. El eugenol estimula la activación de linfocitos y otras células inmunes, potenciando la respuesta frente a infecciones frecuentes en aves (Jang et al., 2021).

Asimismo, el clavo de olor posee propiedades antioxidantes, que contribuyen a minimizar el daño celular provocado por radicales libres generados en condiciones de estrés y enfermedad. Estos radicales libres pueden comprometer la funcionalidad de las células inmunológicas, pero los

antioxidantes presentes en el clavo neutralizan estas moléculas, permitiendo que las células del sistema inmune mantengan su eficacia. Esta actividad antioxidante reduce el estrés oxidativo, favoreciendo una respuesta inmune rápida y eficiente, esencial para mantener la salud integral de los pollos (Nogueira-Neto et al., 2023).

Además, el clavo de olor actúa como modulador antiinflamatorio, ayudando a evitar respuestas inflamatorias excesivas y crónicas, las cuales pueden suprimir la función inmunitaria y aumentar la susceptibilidad a enfermedades. Sus compuestos bioactivos disminuyen la inflamación en las vías respiratorias y otras zonas del cuerpo, logrando un equilibrio en la respuesta inmune que permite controlar infecciones sin ocasionar daño adicional (Rodríguez-García et al., 2022).

El uso dietético de clavo de olor en pollos mejora la resistencia frente a enfermedades respiratorias y digestivas comunes en la avicultura, incrementando la producción de anticuerpos y fortaleciendo las defensas naturales. Este estímulo inmunológico también favorece una recuperación más rápida tras enfermedades o tratamientos, contribuyendo a la salud y el rendimiento productivo de las aves (Fernández-Lázaro et al., 2021).

En síntesis, el clavo de olor es un recurso natural valioso para estimular un sistema inmunológico robusto y equilibrado en pollos, gracias a su combinación de propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y moduladoras inmunitarias, mejorando el bienestar general y la productividad avícola (Jang et al., 2021; Nogueira-Neto et al., 2023; Fernández-Lázaro et al., 2021).

3.16 Eugenol contra *Salmonella* spp

Investigaciones doctorales han confirmado la eficacia del eugenol como un potente antibacteriano contra *Salmonella* spp. Estudios como el de (Al-Marzoqi,2020), documentaron cómo el eugenol altera la permeabilidad de la membrana de *Salmonella enterica*, lo que genera fuga de contenido intracelular y la muerte celular. Este mecanismo es particularmente relevante frente a cepas resistentes a antibióticos, donde los compuestos fenólicos han mostrado ser efectivos al superar las barreras enzimáticas de resistencia bacteriana (Al-Marzoqi, 2020).

Un hallazgo importante en estudios avanzados es la capacidad del eugenol para actuar sobre los biofilms, estructuras bacterianas que protegen a las bacterias de agentes antimicrobianos convencionales. Trabajos como el de (Silva, 2018), señalaron que el eugenol no solo reduce la formación de biofilms, sino que también los desintegra en etapas avanzadas, mejorando así la

eficacia del control bacteriano en entornos donde la contaminación persistente es un problema recurrente.

Compuestos fenólicos: eugenol: sustancia natural que ha sido aislada de diferentes plantas aromáticas como la canela, la nuez moscada y la albahaca, pero que la planta fuente por excelencia es el clavo de olor (45 – 90% del total de su composición). A este compuesto químico natural se le han demostrado efectos antimicrobianos (frente a hongos, bacterias y virus) (Teixeira et al. 2018), El eugenol tiene una mayor efectividad frente a bacterias Gram negativas (a pesar de que se ha reportado resistencia por parte de *Escherichia coli* esto es debido a la afinidad del eugenol por los lipopolisacáridos que rompe las cadenas entre monómeros y aumenta la permeabilidad de la membrana. (Nonsee et al., 2011), los cuales se encuentran en mayor cantidad en este grupo de bacterias, y al tener las bacterias Gram-positivas mayor contenido de peptidoglicano no son blanco del eugenol. Este compuesto químico producido por células vegetales inhibe la producción de enzimas extracelulares como amilasas y proteasas, lo que produce una elevada tasa de lisis celular García y García (2008), Carvacrol y timol: estos compuestos actúan como desacopladores de membrana en la célula bacteriana (Nonsee et al., 2011), afirman que el mecanismo de acción está dado por una desnaturalización de las 21 proteínas y también por una reacción con los fosfolípidos de la membrana celular, de tal manera que se produce un desequilibrio osmótico con la subsecuente muerte celular. Otros blancos de estos compuestos de origen natural son las rutas metabólicas, síntesis de proteínas y el sistema genético; por ejemplo, se observó que las bacterias expuestas a concentraciones menores a las letales de estos dos compuestos producen “cambios en la concentración de los ácidos grasos de la membrana celular, presentándose un aumento de los ácidos grasos insaturados”. También se ha demostrado un efecto sobre la filtración del contenido celular, la coagulación del citoplasma y la disminución de la fuerza motriz (García y García, 2008).

Se le han comprobado múltiples utilidades y se ha empleado históricamente en áreas como: agrícola, gastronómica y medicinal; entre las funciones que se le pueden atribuir encontramos: antiséptico, fungicida, antibacterial, antiviral, antiespasmódico, anestésico local; adicionalmente presenta una acción estimulante del apetito y la digestión, (Ramirez, et al., 2002); además, en un estudio realizado por la universidad de la Rioja, Departamento de Agricultura y Alimentación, se comprobó que también se comporta como promotor del crecimiento en animales. (Zarazaga y Torres, 2002), posee propiedades antimutagénicas, diuréticas, cardiotónicas, carminativas y repelentes frente a vectores de parasitemias y viremias, sin olvidar su capacidad antioxidante.

(Aguilar y López, 2013), entre sus propiedades se destaca su efecto antibacteriano; este se debe en su mayoría a los compuestos fenólicos, ya que su concentración es directamente proporcional a la efectividad antimicrobiana, estos compuestos desnaturalizan las proteínas y reaccionan con los fosfolípidos de la membrana celular de las bacterias, cambiando su permeabilidad y produciendo su muerte (Nonsee et al., 2011).

La especia posee la capacidad intrínseca de inhibir el crecimiento de diferentes especies bacterianas de importancia industrial, sin embargo, es necesario aclarar que el método de extracción del aceite influye en la calidad final del mismo, y por ende, en su efectividad, así como se describen mejores resultados si se emplea un extracto etanólico del clavo de olor en lugar del aceite, esto lo demostraron al encontrar que la CMI del clavo de olor es mayor a la del extracto (Aguilar y López, 2013). Su composición es variada, pero en términos generales, los compuestos principales son: eugenol (49-98%) y acetileugenol, alfa y beta-cariofilenos, eugenil acetato, éster bencílico del ácido benzoico, éster bencílico del ácido salicílico (Vaca, 2013), y pequeñas cantidades de ésteres, cetonas, cariofileno, humuleno y alcoholes (Armas et al., 2011).

3.17 Acción antimicrobiana frente a *Salmonella* spp

El eugenol, que es el principal compuesto activo presente en el aceite esencial del clavo de olor, ha mostrado una potente actividad antimicrobiana contra múltiples patógenos, incluido *Salmonella* spp. Su efectividad se basa en diversos mecanismos que alteran funciones vitales para la viabilidad y multiplicación bacteriana (Pandima Devi et al., 2010). Estos mecanismos aseguran la reducción significativa de la proliferación bacteriana, haciendo del eugenol una alternativa prometedora para el control de infecciones en avicultura.

3.18 Daño a la membrana celular

Entre los mecanismos antimicrobianos más importantes, el eugenol compromete la integridad de la membrana celular bacteriana. Esta alteración provoca la pérdida de iones, ATP y otras moléculas intracelulares esenciales, desestabilizando el metabolismo bacteriano. La progresiva ruptura de esta membrana conduce al colapso osmótico y a la muerte de la célula (Pandima Devi et al., 2010; Tserennadmid et al., 2020)

3.19 Inhibición de las síntesis de proteínas y ácidos nucleicos

El eugenol interfiere con los procesos celulares bacterianos de transcripción y traducción, deteniendo la producción de proteínas, así como la replicación del ADN y ARN. Esta acción limita

la capacidad de las bacterias para reproducirse y adaptarse a condiciones adversas, frenando la infección (Palaniappan y Holley, 2010).

3.20 Interferencia con la pared celular

En ciertos tipos bacterianos, el eugenol afecta la síntesis del peptidoglicano, un componente esencial de la pared celular, debilitándola y haciendo a la bacteria más vulnerable a la lisis por cambios osmóticos. Este mecanismo reduce considerablemente la capacidad de supervivencia del patógeno (Tserennadmid et al., 2020).

3.21 Interacción con los sitios de unión de enzimas clave

El eugenol puede unirse a sitios activos de enzimas bacterianas fundamentales para la generación de energía y síntesis de componentes estructurales. Al inhibir estas enzimas, el metabolismo bacteriano se ve comprometido, afectando la homeostasis celular y conduciendo a la inactivación bacteriana (Kavoosi y Rahimmalek, 2014).

3.22 Reducción de la adhesión bacteriana

El eugenol también disminuye la capacidad de adhesión de *Salmonella* spp. a las células epiteliales intestinales, evitando así el establecimiento de la bacteria en el huésped, lo que reduce el riesgo de infección y disminuye la virulencia del patógeno (Usman, Mustafa, & Anwar, 2018).

3.23 Mecanismo de acción del clavo de olor

Los aceites esenciales, debido a su naturaleza hidrofóbica, penetran eficazmente en el periplasma de bacterias Gram negativas, aspecto no común en antibióticos convencionales, lo que permite coagular el contenido intracelular (García y García, 2008). La sinergia entre compuestos químicos del clavo deteriora sistemas enzimáticos implicados en la síntesis de paredes, membranas, respiración celular y producción energética (Armas et al., 2011). La actividad antimicrobiana está vinculada sobre todo a la concentración de compuestos fenólicos, que son los principales agentes implicados. Además, el eugenol inhibe la ARN polimerasa, bloqueando genes esenciales para la síntesis de proteínas, lo que impide la renovación celular bacteriana (Raja et al., 2022). También puede inducir daño en el ADN bacteriano, interrumpiendo la replicación y transcripción, y afectando la formación de biofilms, estructuras que protegen a las bacterias frente a tratamientos convencionales, facilitando una acción más efectiva del sistema inmune y antimicrobianos (Chouhan et al., 2017).

3.24 Aplicación del eugenol en Sistemas de Producción Aviar

En el ámbito pecuario, especialmente en la producción intensiva de aves de corral, se han evaluado los efectos del eugenol tanto como aditivo en dietas animales como en tratamientos tópicos. Estudios han demostrado que la incorporación de eugenol como suplemento alimenticio reduce la colonización intestinal de *Salmonella* spp, especialmente *Salmonella Enteritidis*, mientras mejora la salud intestinal general de los pollos de engorde (Kollanoor-Johny et al., 2012). Además, investigaciones han evidenciado que el eugenol contribuye a proteger contra infecciones por *Salmonella Typhimurium*, al preservar la integridad de la barrera mucosal intestinal y modular la respuesta inflamatoria (Li et al., 2022). Más aún, recientes hallazgos muestran que la inclusión de eugenol en las dietas acelera la regeneración de células madre intestinales y fortalece la función de la barrera intestinal en pollos desafiados con *Salmonella Enteritidis* (Lv et al., 2025). Estos resultados subrayan la versatilidad del eugenol como agente antibacteriano eficaz, tanto en aplicaciones internas (dietas) como externas (higiene ambiental).

3.25 Comparación con antibióticos convencionales

El uso del eugenol como alternativa a los antibióticos ha sido un enfoque clave en trabajos académicos recientes. Un ejemplo es el estudio doctoral de Zhang (2020), que evaluó su eficacia frente a múltiples patógenos en comparación con antibióticos como la enrofloxacin.

Los resultados indicaron que el eugenol no solo inhibió eficazmente el crecimiento de *Salmonella* spp., sino que también evitó el desarrollo de resistencia bacteriana. Además, los estudios concluyeron que el eugenol tiene un perfil de seguridad favorable en dosis controladas, siendo menos propenso a producir efectos adversos en los consumidores de productos avícolas.

La acción antibiótica de (*Syzygium aromaticum*), la misma está basada en las reacciones bioquímicas en las células de los microorganismos afectados, inhibiendo la recomposición de las proteínas, los ácidos nucleicos y de la membrana de la pared celular. En este sentido, se: “atribuye a los compuestos fenólicos ya que desnaturalizan las proteínas de la membrana del microorganismo reaccionando con los fosfolípidos y así cambian la permeabilidad de la célula produciendo su muerte” (González y Rojas, 2018).

Se aprovecha externamente en aplicación tópica para el tratamiento infecciones causadas por bacterias (González y Rojas, 2018).

3.26 Innovación y perspectivas futuras

Las investigaciones actuales apuntan a la integración del eugenol en sistemas de liberación controlada, como nanopartículas y encapsulación, para superar sus limitaciones. Estudios doctorales recientes, como el de Oliveira (2022), han probado que la encapsulación del eugenol mejora su estabilidad y potencia antimicrobiana, permitiendo aplicaciones más efectivas en la producción animal. Estas innovaciones podrían revolucionar el control de *Salmonella* spp. en el sector avícola, reduciendo significativamente la dependencia de antibióticos y mejorando la seguridad.

3.27 Método de extracción de extractos naturales

El método de extracción por Soxhlet es una técnica ampliamente empleada en laboratorios químicos para aislar compuestos solubles, como aceites y grasas, a partir de matrices sólidas mediante el uso continuo de un disolvente orgánico (Gaspar, 2019). Esta técnica ofrece alta eficiencia al permitir múltiples ciclos de extracción sin pérdida de solvente, lo que garantiza la recuperación casi total del componente deseado.

En el sistema Soxhlet, el solvente se calienta en un balón de fondo, se evapora, asciende hasta el condensador donde se enfría, y retorna en forma líquida sobre la muestra contenida en un cartucho de papel filtro. Este proceso se repite cíclicamente, permitiendo que el solvente extraiga progresivamente los compuestos solubles. Finalmente, el extracto se recolecta en el matraz de fondo y el solvente es evaporado para obtener el aceite puro (Gaspar, 2019).

3.28 Análisis cromatográfico

es una técnica analítica ampliamente utilizada para separar, identificar y cuantificar compuestos en una mezcla compleja. En el caso del eugenol, un compuesto fenólico comúnmente encontrado en aceites esenciales, esta técnica es muy útil para su análisis debido a su alta precisión, sensibilidad y versatilidad (Nieto, 2023).

El eugenol puede ser separado y cuantificado utilizando la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) mediante una columna C18, que es una columna de fase reversa comúnmente utilizada debido a su capacidad para separar compuestos no polares. El eugenol, siendo un compuesto fenólico, se eluye eficientemente utilizando una mezcla adecuada de solventes, por ejemplo, una combinación de agua y acetonitrilo. Esta mezcla permite una adecuada resolución de los picos en el cromatograma. La detección de eugenol se realiza mediante un detector UV a una

longitud de onda de 280 nm, que es característica de compuestos fenólicos debido a la absorción de la radiación UV en esta región del espectro (Nieto, 2023).

3.29 Beneficios del HPLC en el análisis del eugenol y su caracterización química

"La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una técnica instrumental indispensable para el análisis cuantitativo y cualitativo del eugenol, el principal compuesto fenólico del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). Su aplicación permite no solo identificar y cuantificar este compuesto con alta precisión, sino también evaluar su pureza y detectar posibles impurezas o compuestos relacionados (Stashenko et al., 2010)."

- **Alta resolución y especificidad:** El HPLC permite separar eficientemente el eugenol de otros compuestos fenólicos presentes en el aceite esencial. Usualmente, se utiliza una columna C18 de fase reversa y una fase móvil de agua-acetonitrilo, que logra una elución adecuada del eugenol con tiempos de retención bien definidos (Bravo Urquiola et al., 2004; Rodríguez et al., 2017).
- **Detección selectiva:** El eugenol presenta una máxima absorción UV alrededor de 280 nm, debido a la presencia de su anillo aromático sustituido. Esto permite una detección específica y sensible mediante detectores UV-VIS, incluso en mezclas complejas (Cordovés Herrera et al., 2013).
- **Capacidad de cuantificación:** Existe una correlación lineal entre la concentración del eugenol y el área del pico cromatográfico, lo cual permite determinar su contenido en diferentes matrices con gran exactitud y reproducibilidad (Cordovés Herrera et al., 2013).
- **Versatilidad de aplicación:** Esta técnica es adaptable a diversas matrices, incluyendo aceites esenciales, productos cosméticos, alimentos y medicamentos, siendo útil para fines de control de calidad, análisis fitoquímico y validación de métodos en farmacología (Rodríguez et al., 2017; Barrera López y Arrubla Vélez, 2017).
- **Control de calidad en aceites esenciales:** Permite verificar la concentración exacta de eugenol en productos industriales y detectar adulteraciones o impurezas (Rodríguez et al., 2017).
- **Análisis farmacéutico y toxicológico:** Garantiza el cumplimiento de estándares en formulaciones donde el eugenol actúa como agente antibacteriano o antiinflamatorio. Además, apoya estudios sobre interacciones con otras sustancias (Barrera López y Arrubla Vélez, 2017).
- **Estudios fitoquímicos y composición natural:** Se utiliza en investigaciones sobre productos naturales para determinar el perfil químico del clavo de olor, identificar componentes

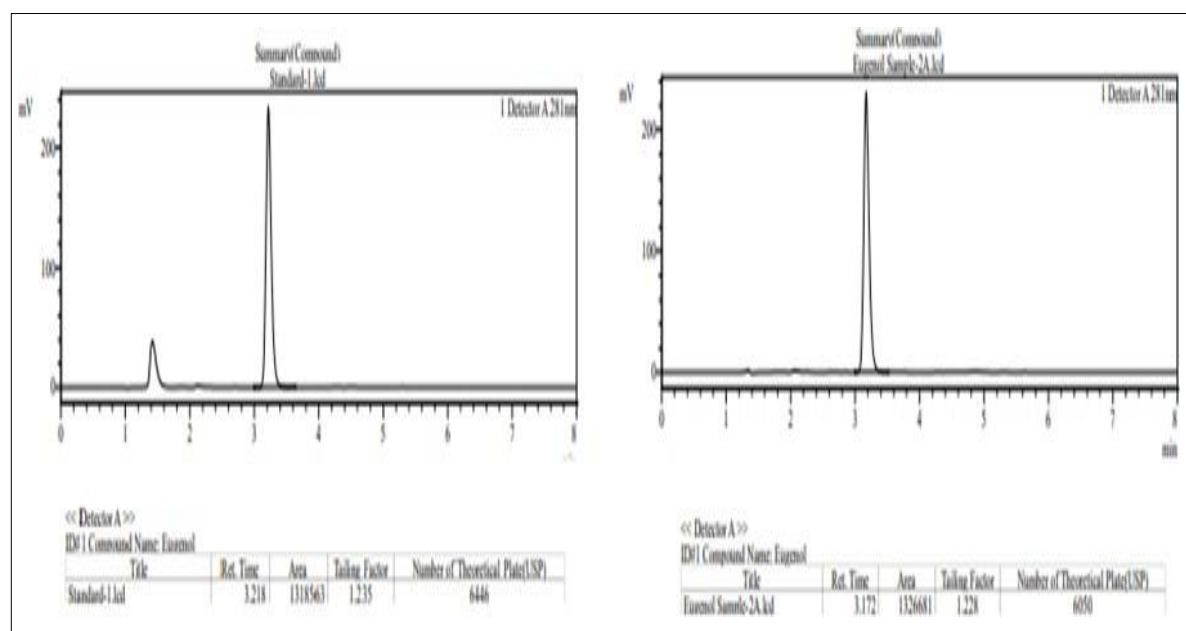
menores y estandarizar extractos vegetales (Barrera López y Arrubla Vélez, 2017; Nieto Leguizamón, 2023).

3.30 Espectros y parámetros de caracterización

El espectro UV del eugenol revela una fuerte banda de absorción alrededor de los 282 nm, característica de compuestos fenólicos (Indalkar y Aloorkar, 2015). En los cromatogramas obtenidos por HPLC, el eugenol suele aparecer con un tiempo de retención de aproximadamente $6,14 \pm 0,036$ minutos cuando se utiliza una columna C18, flujo de 1 mL/min y detección a 280 nm (The Pharma Innovation Journal, 2021). Su análisis comparativo con estándares certificados.

Figura 1

Análisis cromatográfico del eugenol caracterización espectral y evaluación de su pureza



Nota. Cromatograma representativo de eugenol aislado de *Syzygium aromaticum* obtenido por HPLC con detección UV a 280 nm. El tiempo de retención promedio fue de 8,63 minutos, indicando la presencia predominante de eugenol en la muestra. **Adaptado de** Munishama Gowda, Y. N., Chaluvvaraju, K. C., & Setty, S. R. (2024). *A validated comparative study of RP HPLC, GC FID and UV spectrophotometric methods for the quantification of eugenol isolated from Syzygium aromaticum L. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 13(5), 544–550. <https://doi.org/10.22271/phyto.2024.v13.i5h.15123>

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se desarrolló con el propósito de evaluar la actividad antibacteriana del eugenol, principal componente del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), frente a cepas de *Salmonella* spp., asociadas a la producción avícola. Se emplearon técnicas microbiológicas y analíticas que permitieron caracterizar la concentración del compuesto, su extracción y su efecto inhibitorio. El diseño metodológico incluyó la obtención del aceite vegetal, la preparación de concentraciones específicas, la aplicación sobre cultivos bacterianos y el análisis mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). A continuación, se detallan los materiales utilizados y los procedimientos experimentales implementados

4. Materiales, reactivos, equipos e insumos

4.1 Material vegetal

- Clavo de olor (Para extracción de aceite vegetal)

4.2 Equipos de laboratorio

- Matraz de Erlenmeyer
- Balón aforado
- Cajas Petri
- Asas
- Micro pipetas
- Frascos boeco
- Frasco ámbar
- Extractor Soxhlet
- Estufa
- Autoclave vertical (N-Biotek modelo: NB-1080)
- Balanza analítica (ADAM modelo: PW 254)

4.3 Reactivos

- Éter de petróleo

- Agar MacConkey
- Caldo de cultivo
- Agua destilada
- Metanol

Se utilizó además el software Gen5® (lectura de microplacas, análisis e interpretación de datos obtenidos mediante espectrofotometría y permite visualizar datos de absorbancia)

4.4 Metodología

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología de la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, cantón Ibarra, provincia de Imbabura. Coordenadas geográficas: Latitud Norte 0° 20' 50", Longitud Oeste 78° 6' 29", altitud 2210 msnm.

En el laboratorio de microbiología se llevaron a cabo los procedimientos experimentales correspondientes, que incluyeron el aislamiento, cultivo y evaluación del crecimiento bacteriano de cepas de *Salmonella* spp. El medio de cultivo utilizado fue Agar MacConkey, seleccionado por su capacidad para diferenciar bacterias gramnegativas mediante la fermentación de lactosa, característica útil para identificar y aislar *Salmonella* spp. Para evaluar la actividad antimicrobiana del eugenol, se aplicaron diferentes concentraciones del compuesto a cultivos bacterianos sembrados sobre este medio. El método empleado fue el de difusión en agar por pozos, técnica que permite observar zonas de inhibición en función de la eficacia del agente aplicado. Finalmente, los datos obtenidos fueron analizados cuantitativamente y correlacionados con las concentraciones de eugenol previamente determinadas mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

4.5 Técnica de obtención del aceite de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*)

Para la recolección, se seleccionó la especie vegetal (*Syzygium aromaticum*), debido a que, según reportes de literatura, presenta actividad antimicrobiana tanto en bacterias como en hongos (Collantes y Bustamante, 2023). Se utilizó aproximadamente dos kilos de clavos de olor que se adquirieron en los mercados locales para obtener el aceite.

La extracción del aceite esencial se llevó a cabo utilizando el método Soxhlet, una técnica clásica ampliamente utilizada por su eficiencia en la recuperación de compuestos orgánicos a

través de una extracción continua y controlada (Pavia et al., 2015). Para ello, la muestra vegetal previamente seca fue colocada dentro de un cartucho de celulosa e introducida en el cuerpo de extracción del equipo Soxhlet. Este se conectó a un balón de fondo redondo que contenía entre 250 y 300 mL de éter de petróleo como disolvente, seleccionado por su alta capacidad para disolver compuestos no polares presentes en matrices vegetales (Azwanida, 2015). En la parte superior del sistema se acopló un condensador de reflujo, asegurando el enfriamiento del disolvente evaporado mediante circulación continua de agua. El disolvente, tras evaporarse por calentamiento, ascendió hacia el condensador, donde se enfrió y retornó en forma líquida sobre la muestra, permitiendo la extracción progresiva de los compuestos activos. Al alcanzar el nivel del sifón, el disolvente se vertía nuevamente al balón, repitiéndose este ciclo durante aproximadamente 3 horas para asegurar una extracción completa. Finalizado el proceso, el disolvente fue eliminado mediante evaporación controlada y el aceite esencial obtenido fue almacenado en frascos de vidrio ámbar estériles, garantizando su conservación para posteriores análisis.

4.6 Preparación de la Muestra para Análisis de eugenol mediante HPLC:

Se analizó la concentración de eugenol mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando un método validado para aceites esenciales de *Syzygium aromaticum*, denominado método aligent, en el cual se empleó una columna C18 y detección UV a 280 nm para compuestos fenólicos (Bezerra et al., 2007). Preparación de la muestra: el aceite esencial fue colocado en un matraz ámbar estéril y filtrado con filtros de jeringa de membrana de PTFE de 0,22 μm resistentes a solventes orgánicos, idóneos para remover partículas finas antes de la inyección (Purnell et al., 1997). La muestra filtrada se sometió a homogeneización mediante agitación suave para asegurar la uniformidad y evitar la sedimentación de componentes más pesados. Filtración: el uso de dichos filtros evitó la entrada de sedimentos al sistema HPLC, prolongando la vida útil de la columna analítica (Purnell et al., 1997). Inyección y análisis cromatográfico: la muestra filtrada se inyectó en el sistema HPLC con un volumen de inyección de 20 μL , utilizando como fase móvil un gradiente de metanol y agua a un flujo constante de 1 mL/min. La columna C18 de fase reversa permitió la separación eficiente de compuestos fenólicos presentes en el aceite, logrando una retención característica de eugenol. La detección se realizó a 280 nm mediante un detector UV, asegurando la especificidad y sensibilidad para este compuesto (Bezerra et al., 2007). Seguridad y trazabilidad: durante todo el procedimiento se

utilizaron guantes, gafas de protección y cabina de bioseguridad, y todas las muestras fueron etiquetadas cuidadosamente. Se registraron las condiciones operativas, incluyendo temperatura de la columna, composición de la fase móvil, flujo y tiempo de retención, siguiendo buenas prácticas de laboratorio y normas de trazabilidad (Sun, 2011).

4.7 Obtención de la muestra

Según Hernández (2014), la aplicación en este tipo de estudios se realiza con frecuencia en investigaciones que requieren conocer la naturaleza de viabilidad de un producto, ya que de esa manera se predice su comportamiento para posteriormente realizar cálculos y métricas que establecen sus características.

Para la toma de muestras se acudió a uno de los principales establecimientos de expendio de carne de gallina; la recolección se realizó aproximadamente a las 9 de la mañana en puestos dedicados al comercio de carne de pollo en el mercado. Las muestras fueron colocadas en fundas estériles y trasladadas al Laboratorio de Microbiología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra para su posterior análisis, siguiendo protocolos de muestreo microbiológico establecidos para productos avícolas (Sperber y Doyle, 2020).

4.8 Metodología para el aislamiento de la bacteria

El aislamiento bacteriano es una técnica fundamental en microbiología que permite separar bacterias específicas presentes en una muestra biológica para su identificación, caracterización y análisis frente a agentes antimicrobianos (Ramanan et al., 2018; Lagier et al., 2015). Aunque Lagier y colaboradores ofrecen una visión general sobre estrategias de cultivo en microbiología clínica (Lagier et al., 2015), Ramanan y su equipo destacan cómo los paneles sindrómicos están transformando los métodos de diagnóstico al acelerar la identificación de agentes patógenos mediante el aislamiento y detección simultáneos de múltiples organismos (Ramanan et al., 2018).

En el presente estudio, el aislamiento se realizó aplicando la técnica de siembra por estría en placa sobre agar MacConkey, un medio selectivo y diferencial ampliamente utilizado para identificar bacterias gramnegativas entéricas como *Salmonella* spp. (Jung y Hoilat, 2022). El agar MacConkey contiene sales biliares y cristal violeta, los cuales inhiben el crecimiento de bacterias grampositivas, y cuenta con lactosa y un indicador de pH para distinguir visualmente entre

bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa mediante cambios de color en el medio (Kumar, 2025).

Se sembró la muestra en un patrón de estría en zigzag en cuatro cuadrantes de la placa estéril, utilizando un asa bacteriológica flameada entre cada cuadrante para diluir progresivamente la concentración bacteriana y favorecer la formación de colonias aisladas. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante al menos 24 horas (Ramanan et al., 2018; Lagier et al., 2015). Las colonias presumiblemente correspondientes a *Salmonella* spp., se reconocieron por ser no fermentadoras de lactosa, lo que se manifiesta en colonias incoloras o de tono beige, lo que permite diferenciarlas de otras enterobacterias fermentadoras (Kumar, 2025; Jung y Hoilat, 2022).

El uso del agar MacConkey como medio selectivo, junto con la técnica de estría estandarizada, asegura un aislamiento confiable de *Salmonella* spp., habilitando su confirmación posterior mediante pruebas bioquímicas específicas (Jung y Hoilat, 2022; Lagier et al., 2015).

4.9 Prácticas microbiológicas en condiciones controladas en laboratorio

Para el cultivo bacteriano se emplearon siete cajas Petri estériles con tres tipos de medios: agar selectivo para *Salmonella* spp., agar buffer y agar MacConkey. Se prepararon 140 mL de agua destilada, a los cuales se añadieron 7 gramos de agar selectivo para *Salmonella*, siguiendo las indicaciones para la preparación de medios microbiológicos (Harrigan, 1998).

El uso del buffer tiene como finalidad mantener el pH constante y estable, lo cual es esencial para un crecimiento microbiano óptimo. Un pH adecuado permite que las enzimas bacterianas funcionen correctamente y previene desviaciones ácidas o alcalinas que podrían inhibir la proliferación de las bacterias (Tortora, Funke, & Case, 2018). En este contexto, el buffer asegura un entorno controlado, mejorando la recuperación y el desarrollo de microorganismos presentes en matrices alimentarias como la carne de pollo (Madigan et al., 2018).

4.10 Inoculación de la muestra en el medio de cultivo

Para el aislamiento preliminar de *Salmonella* spp., se realizó la inoculación de las muestras en medio de cultivo sólido agar MacConkey, el cual es selectivo para bacterias gramnegativas y diferencial por su contenido en lactosa. Este medio permite distinguir las bacterias fermentadoras de lactosa (que producen colonias rosadas) de las no fermentadoras, como *Salmonella* spp. que forman colonias incoloras o transparentes (Forbes et al., 2007).

Las muestras, previamente enriquecidas, fueron sembradas en condiciones de esterilidad utilizando la técnica de estría cruzada en zigzag, con el objetivo de favorecer la formación de colonias aisladas. Este método permite que una colonia bacteriana provenga de una sola célula, facilitando su posterior identificación. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas, temperatura óptima para el crecimiento de enterobacterias como *Salmonella* spp. (Madigan et al., 2018; Prescott et al., 2020).

4.11 Observación y descripción de colonias bacterianas aisladas

Las muestras, previamente enriquecidas, fueron sembradas en condiciones de esterilidad utilizando la técnica de estría cruzada en zigzag, con el objetivo de favorecer la formación de colonias aisladas. Este método permite que una colonia bacteriana provenga de una sola célula, facilitando su posterior identificación. Las placas fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas, temperatura óptima para el crecimiento de enterobacterias como *Salmonella* spp. (Willey et al., 2011).

4.12 Identificación de la bacteria

El agar MacConkey es un medio selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento e identificación de enterobacterias Gram negativas, particularmente en muestras clínicas, alimentos y agua. Su fórmula permite distinguir entre bacterias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa, gracias a la inclusión de lactosa como fuente de energía y rojo neutro como indicador de pH. Las sales biliares y el cristal violeta inhiben el crecimiento de bacterias Gram positivas, mientras que el cloruro de sodio y las peptonas favorecen el desarrollo de bacterias entéricas como *Salmonella*. Las colonias fermentadoras de lactosa, como *Escherichia coli*, aparecen rosadas, mientras que las no fermentadoras, como *Salmonella* spp., forman colonias incoloras o traslúcidas (Valtek, 2024).

4.13 aislamiento de una colonia pura

Posterior al crecimiento preliminar en agar MacConkey, se seleccionaron colonias presuntamente compatibles con *Salmonella* spp. para proceder con su aislamiento en forma de colonia pura. Para este proceso, se tomó una de las colonias seleccionadas y se inoculó en un medio líquido de cultivo enriquecido, específicamente LB Broth (Luria-Bertani), de acuerdo con las especificaciones del fabricante, bajo condiciones estériles. El tubo inoculado fue incubado a 37 °C durante 24 horas, permitiendo el crecimiento de la bacteria en el medio líquido. Este paso tuvo como finalidad obtener una alta concentración de la bacteria en forma pura, sin contaminación por

otros microorganismos. La utilización del caldo como medio de enriquecimiento favoreció una proliferación selectiva que garantizó la pureza del aislamiento bacteriano (Green y Sambrook, 2012).

4.14 Determinación de la densidad óptica de *Salmonella* spp utilizando espectrofotometría como método de análisis microbiológico

Para llevar a cabo la turbidimetría de *Salmonella* spp., se preparó una suspensión bacteriana en condiciones estériles utilizando caldo nutritivo como medio de cultivo. Esta suspensión fue homogeneizada cuidadosamente para asegurar una distribución uniforme de las bacterias. La medición de la densidad óptica (DO) se realizó mediante un espectrofotómetro, configurado a una longitud de onda de 625 nm, que es adecuada para evaluar la turbidez generada por el crecimiento microbiano en medios líquidos.

La densidad óptica es una medida indirecta de la concentración bacteriana: a mayor turbidez, mayor número de bacterias presentes en la muestra, ya que las células dispersan la luz. Por tanto, una lectura más alta de absorbancia indica un crecimiento bacteriano más denso, mientras que valores bajos reflejan una menor concentración microbiana. Se utilizó una placa de pocillos limpia y libre de burbujas para evitar interferencias en la lectura. Finalmente, se registraron los valores de absorbancia, los cuales se utilizaron como estimadores del crecimiento de *Salmonella* spp. en el caldo (Madigan et al., 2015).

4.15 Análisis de la sensibilidad de la bacteria *Salmonella* spp a antibióticos mediante microdilución con eugenol obtenido del aceite esencial de clavo de olor *Syzygium aromaticum*.

Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), se utilizó el método de micro dilución en caldo en placas de 96 pozos, siguiendo protocolos recomendados para la evaluación de compuestos naturales y aceites esenciales (Balouiri et al., 2016). Se prepararon diluciones seriadas del aceite esencial de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) en el medio de cultivo LB (Luria-Bertani broth), adecuado para el crecimiento de enterobacterias. La suspensión bacteriana de *Salmonella* spp. Fue ajustada a una turbidez equivalente a 0,5 en la escala de McFarland, correspondiente aproximadamente a $1-2 \times 10^8$ UFC/mL. Posteriormente, se inocularon 100 μ L de

esta suspensión en cada pozo, alcanzando una concentración final de 5×10^5 UFC/mL. Las placas fueron incubadas a 35 °C durante 24 horas, y luego se evaluó el crecimiento bacteriano mediante lectura de densidad óptica a 625 nm en un espectrofotómetro, permitiendo identificar la inhibición del crecimiento bacteriano (Sarker et al., 2007). La CMI se determinó como la menor concentración del aceite esencial en la que no se observó turbidez ni crecimiento visible, indicando inhibición completa del microorganismo. Este método ha sido ampliamente validado por su confiabilidad, reproducibilidad y aplicabilidad en estudios microbiológicos con aceites esenciales.

4.16 Análisis estadístico

La presente investigación utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con el objetivo de evaluar el efecto antimicrobiano del eugenol, principal componente del aceite esencial de *Syzygium aromaticum*, frente a *Salmonella* spp.

Se diseñaron cuatro tratamientos distintos, con el objetivo de evaluar los efectos del eugenol, principal componente del aceite esencial de clavo de olor *Syzygium aromaticum*, en cada tratamiento sobre la inhibición frente a *Salmonella* spp.

- T1: 175 ppm de eugenol (concentración alta).
- T2: 150 ppm de eugenol (concentración media).
- T3: 125 ppm de eugenol (concentración baja).
- T4: Testigo con enrofloxacin (antibiótico).

Cada tratamiento fue evaluado con tres repeticiones independientes, considerándose como unidad experimental cada pocillo de la microplaca de 96 cavidades de fondo plano. Los tratamientos incluyeron concentraciones de eugenol de 175 ppm (T1), 150 ppm (T2) y 125 ppm (T3), elegidas siguiendo estudios previos que demostraron efectos antimicrobianos significativos de eugenol, con reducciones de colonización de *Salmonella* a niveles comparables (Wen et al., 2023). Como control positivo se empleó enrofloxacin (T4), un fluoroquinolón frecuentemente usado en avicultura para controlar infecciones entéricas causadas por *Salmonella* (Ma et al., 2020). La inclusión de un control positivo permitió validar la metodología utilizada y establecer comparaciones directas entre la eficacia del compuesto natural evaluado y un antimicrobiano de referencia en la producción avícola.

Para el análisis de los datos, se utilizó el software XLSTAT 2023.2.0.1411 (Lumivero, 2023), aplicando las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación de medias de Tukey, con un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Este enfoque estadístico es recomendado en investigaciones microbiológicas para determinar diferencias significativas entre tratamientos (Torres et al., 2020).

4.17 Variables

Variables independientes

- Concentración del eugenol extracto del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) se evaluará mediante las concentraciones alta, media y baja.

Variables dependientes

- % de inhibición de *salmonella* spp. Se determinará mediante un antibiograma en ensayos de difusión en agar.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) frente a *salmonella* spp, se determinó mediante el ensayo de microdilución en placas de 96 pocillos de fondo plano, siguiendo los lineamientos propuestos por Wiegand et al. (2008), en ensayos de antimicrobianos. Las mediciones de densidad óptica (DO) se realizaron a 625 nm utilizando un lector de microplacas al inicio del experimento (0 h) y después de 18 h de incubación, metodología que ha demostrado ser confiable en la evaluación de agentes antimicrobianos naturales y sintéticos (Andrews, 2001; Balouiri et al., 2016).

La Tabla 2 muestra los tratamientos experimentales incluidos en el estudio y las concentraciones independientes evaluadas para cada uno. Se consideraron tres concentraciones de eugenol (125, 150 y 175 ppm) correspondientes a los tratamientos T3, T2 y T1, respectivamente. Además, se incluyó un tratamiento control con un antibiótico de referencia (T4), con el fin de comparar la eficacia antimicrobiana del eugenol frente a *Salmonella* spp. y establecer su desempeño relativo frente a un estándar reconocido.

Tabla 2*Tratamientos efectuados y concentraciones estudiadas en cada tratamiento*

Extracto total de la especie vegetal	Tratamientos	Concentración (ppm)
<i>Eugenol</i>	T1	175
	T2	150
	T3	125
	T4: Antibiótico	

La Tabla 3 presenta el esquema del análisis de varianza (ANOVA) empleado en este estudio, detallando las fuentes de variación y los grados de libertad correspondientes. Este análisis permitió determinar si existían diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, proporcionando una base estadística sólida para interpretar la eficacia del eugenol frente a *Salmonella* spp.

Tabla 3*Esquema del ANOVA*

Fuentes de variación	Grados de libertad
<i>Total</i>	11
<i>Tratamiento</i>	3
<i>Error</i>	8

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5. Caracterización del eugenol por HPLC

La caracterización química del aceite esencial se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), empleando un sistema Agilent con detección UV a 280 nm y utilizando una columna C18, siguiendo el protocolo descrito por Nieto Leguizamón (2023). El análisis cromatográfico permitió identificar el eugenol como el principal compuesto fenólico presente en la muestra, con un tiempo de retención promedio de 8,23 minutos. El área del pico correspondiente al eugenol representó aproximadamente el 85,25 % del total de compuestos detectados, lo cual evidencia una alta concentración de este metabolito. Estos resultados coinciden con estudios previos que reportan al eugenol como el componente mayoritario en aceites esenciales de origen similar (Cordovés Herrera et al., 2013; Rodríguez et al., 2017), reafirmando su relevancia como agente bioactivo con potencial antimicrobiano.

En la Tabla 4 se presentan los resultados de la caracterización química del aceite esencial de clavo de olor mediante HPLC. El eugenol se identificó como el compuesto mayoritario, con un área de pico del 85,25 %, lo cual confirma su papel como principal agente bioactivo. Este hallazgo coincide con lo reportado por Cordovés Herrera et al. (2013) y Rodríguez et al. (2017), quienes describen concentraciones superiores al 80 % en aceites de similar origen.

El elevado contenido de eugenol tiene una relevancia directa en la interpretación de los resultados microbiológicos, ya que permite atribuir la mayor parte de la actividad inhibitoria observada frente a *Salmonella* spp. a este compuesto fenólico. La consistencia del tiempo de retención (8,23 min) con los valores referenciados en literatura respalda la confiabilidad de la metodología empleada (columna C18, detección UV a 280 nm).

Desde una perspectiva aplicada, este perfil químico robusto garantiza la viabilidad del eugenol como candidato para ser incorporado en prácticas de bioseguridad avícola en Ecuador. En particular, su pureza y predominancia sugieren que, en formulaciones a concentraciones de 150–175 ppm, podría alcanzarse un efecto antimicrobiano significativo sin necesidad de combinarlo con altos niveles de otros compuestos, lo cual favorecería la estandarización de dosis y la reducción de costos en la industria productiva nacional.

Tabla 4

Resultados de la caracterización química del aceite esencial del clavo de olor por HPLC

Parámetro	Resultado	Referencia / Observación
Técnica analítica utilizada	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	Sistema Agilent con detección UV a 280 nm
Tipo de columna	C18	Columna de fase reversa, adecuada para compuestos fenólicos
Tiempo de retención del eugenol	8,23 minutos	Valor promedio en las repeticiones cromatográficas
Porcentaje de área del pico del eugenol	85,25 %	Indica alta concentración del compuesto en el aceite esencial
Compuesto mayoritario identificado	Eugenol	Confirmado por comparación con estándares y literatura científica
Coincidencia con reportes previos	Sí	Cordovés Herrera et al. (2013); Rodríguez et al. (2017)

5.1 Caracterización bacteriana

Las bacterias aisladas a partir de muestras de carne de pollo fueron identificadas como bacilos Gram negativos no fermentadores de lactosa, concordando con el perfil fenotípico típico de *Salmonella* spp. en agar MacConkey. En este medio, las colonias presentan morfología incolora, circular y translúcida, lo que refleja su incapacidad para fermentar lactosa (Quinn et al., 2016).

La identificación se corroboró con características morfológicas clásicas reconocidas por organismos internacionales, como la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018). Este patrón fenotípico coincide con lo reportado en la literatura, destacando que *Salmonella* spp. posee un perfil fermentativo negativo para lactosa y una morfología colonial distintiva en medios diferenciales como MacConkey (Quinn et al., 2016; OMS, 2018).

En la Tabla 5, se resumen las características fenotípicas de las bacterias aisladas de carne de pollo, compatibles con el patrón típico de *Salmonella* spp. La identificación en medios selectivos, como el agar MacConkey, se facilita al observar bacilos Gram negativos no fermentadores de lactosa, que forman colonias incoloras, circulares y translúcidas. La ausencia de fermentación de lactosa, confirmada por la producción negativa de ácido, junto con la morfología colonial específica, permite una identificación confiable y rápida de estos patógenos.

Este perfil fenotípico concuerda con los reportes de la Organización Mundial de la Salud (2018) y otros estudios de referencia sobre *Salmonella* spp., reforzando la validez de los métodos empleados en el presente estudio. La correcta identificación fenotípica es crucial no solo para el diagnóstico microbiológico, sino también para establecer estrategias de control y bioseguridad en la producción avícola.

Tabla 5

Características fenotípicas de las bacterias aisladas de carne de pollo compatibles con Salmonella spp. en agar MacConkey

Característica	Descripción
Tipo de bacteria	Bacilos Gram negativos no fermentadores de lactosa
Identificación	Perfil fenotípico característico de <i>Salmonella</i> spp. en agar MacConkey
Apariencia colonial en MacConkey	Colonias incoloras, circulares y translúcidas
Producción de ácido a partir de lactosa	No produce ácido (fermentación negativa para lactosa)
Método de identificación microscópica	Observación tras tinción de Gram
Referencias	Organización Mundial de la Salud (2018); reportes fenotípicos coherentes con <i>Salmonella</i> spp.
Importancia fenotípica	Perfil fermentativo negativo para lactosa y morfología colonial distintiva en medios diferenciales

Como se observa en la Figura 2, las colonias presentan morfología circular, translúcida e incolora, características típicas de *Salmonella* spp. en agar MacConkey. Esta evidencia visual concuerda con los datos descritos en la Tabla 3, lo que permite corroborar el perfil fenotípico característico de este género bacteriano. La coincidencia entre la observación microscópica y la descripción fenotípica respalda la identificación preliminar de las cepas aisladas como *Salmonella* spp., en línea con lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018).

Además, la integración de los resultados de la Figura 2 con la información de la Tabla 3 proporciona una base sólida para la validación de los métodos de identificación utilizados, destacando su aplicabilidad en la detección temprana de contaminaciones en la carne de pollo y fortaleciendo las estrategias de bioseguridad en el contexto productivo avícola nacional.

Figura 2

Cultivo de la bacteria *salmonella spp* en agar MacConkey



5.2 Efectos del eugenol sobre *salmonella spp* y determinación de la concentración mínima inhibitoria.

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del eugenol frente a *Salmonella spp.* se evaluó con tres concentraciones (125, 150 y 175 ppm), mostrando todas inhibiciones superiores al 50 %, alcanzando hasta 88,31 % en la concentración más alta.

Este hallazgo sugiere que la concentración más baja (125 ppm) podría estar cerca o por debajo de la CMI, ya que se logró una inhibición significativa sin necesidad de utilizar concentraciones mayores como 175 ppm o 150 ppm.

No obstante, dado que las tres dosis mostraron niveles similares de inhibición en algunas muestras, por ejemplo, la muestra 3, se recomienda realizar una curva de dilución más precisa para establecer con exactitud la CMI. Según Burt (2004), la CMI se define como la menor concentración de un agente antimicrobiano que inhibe completamente el crecimiento visible del microorganismo.

Estos resultados confirman la eficacia del eugenol como agente antimicrobiano natural frente a *Salmonella spp.*, atribuida a su capacidad para alterar la permeabilidad de la membrana bacteriana y provocar la pérdida de componentes intracelulares esenciales (Turgis et al., 2009). Su uso constituye una alternativa prometedora para reducir antibióticos convencionales en la producción avícola, favoreciendo un control eficiente de patógenos y prácticas más sostenibles y seguras.

En la Tabla 6, se presentan los porcentajes de inhibición de *Salmonella spp.* frente al eugenol y al testigo (enrofloxacina) en condiciones in vitro, evaluados mediante tres repeticiones

independientes por tratamiento. Los resultados evidencian una clara relación dosis respuesta, donde el aumento de la concentración de eugenol se traduce en mayores niveles de inhibición bacteriana.

Este comportamiento dosis-dependiente fue estadísticamente confirmado mediante análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey HSD, que mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre todas las concentraciones evaluadas. Los hallazgos coinciden con estudios previos que reportan la actividad antimicrobiana del eugenol en función de la dosis empleada (Rodríguez et al., 2017; Cordovés Herrera et al., 2013), reforzando su potencial como agente natural para el control de patógenos alimentarios.

Desde una perspectiva aplicada, estos resultados sugieren que el eugenol podría incorporarse en formulaciones destinadas a granjas avícolas nacionales, apoyando estrategias de bioseguridad y reduciendo el uso de antibióticos convencionales, sin afectar la eficiencia productiva.

Tabla 6

Porcentaje de Inhibición bacteriano del eugenol principal compuesto del aceite esencial de clavo de olor

Tratamiento	Dosis de eugenol (ppm)	% de Inhibición Tratamientos			Promedio de Inhibición	Desviación estándar
		1	2	3		
Testigo antibiótico	150	95,32	94,59	93,23	94,38	1,06
Concentración alta	175	88,67	86,20	90,05	88,31	1,95
Concentración media	150	62,13	69,88	77,19	69,73	7,53
Concentración baja	125	52,64	56,14	56,33	55,05	2,8

5.3 Prueba de normalidad de Shapiro – Wilk y Homocedasticidad de varianza de Levene

Tras realizar el test de Shapiro-Wilk y el contraste de Levene, los resultados presentados en la Tabla 7 indican que los datos evaluados se ajustan a una distribución normal y cumplen con la homogeneidad de varianzas requerida para los análisis estadísticos posteriores.

Tabla 7*Prueba de normalidad y homocedasticidad*

<i>Variable</i>	<i>Observaciones</i>	<i>Media</i>	<i>Desv. típica</i>	<i>Shapiro_test</i>		<i>Levene_test</i>	
				<i>W</i>	<i>p-value</i>	<i>F</i>	<i>p-value</i>
<i>% crecimiento bacteriano</i>							
<i>(Eugenol)</i>	12	23,13	16,585	0,894	0,131	0,920	0,205
<i>% inhibición bacteriana</i>							
<i>(Eugenol)</i>	12	76,87	16,585	0,894	0,131	0,920	0,205

Nota. Shapiro_test y Levene_test p-value > 0.05

5.4 Análisis de varianza del porcentaje de inhibición bacteriana tras la aplicación de dosis de eugenol, principal compuesto del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), sobre *Salmonella* spp.

Tras el análisis de varianza (ANOVA) presentado en la Tabla 8, se observa que existen diferencias altamente significativas ($p < 0,0001$) entre los tratamientos evaluados, correspondientes a distintas concentraciones de eugenol, el principal compuesto del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), sobre la variable de inhibición bacteriana frente a *Salmonella* spp.

El promedio de inhibición obtenido para los tratamientos fue de 76,867 %, mientras que el coeficiente de variación (CV = 5,285 %) indica una baja dispersión de los datos respecto al promedio, lo que refleja un efecto consistente y significativo de los tratamientos sobre la inhibición bacteriana.

Estos resultados confirman que el eugenol ejerce un efecto dosis dependiente sobre *Salmonella* spp. y proporcionan evidencia estadística sólida que respalda su aplicabilidad como agente antimicrobiano natural en el control de patógenos alimentarios, con potencial uso en granjas avícolas nacionales para fortalecer la bioseguridad y reducir la dependencia de antibióticos convencionales.

Tabla 8

Análisis de varianza de la variable inhibición bacteriana del eugenol principal compuesto del clavo de olor Syzygium aromaticum sobre la bacteria Salmonella spp

<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Cuadrados medios</i>	<i>F</i>	<i>Pr > F</i>	<i>p-values signification codes</i>
<i>Total, corregido</i>	11	3025,768				
<i>Tratamientos</i>	3	2893,762	964,587	58,457	<0,0001	***
<i>Error</i>	8	132,006	16,501			

Calculado contra el modelo $Y=Media(Y)$

*Signification codes: $0 < *** < 0.001 < ** < 0.01 < * < 0.05 < . < 0.1 < ^\circ < 1$*

Promedio (%) 76.867

CV (%) 5.285

Nota. GL: Grados de libertad, F: valor F calculado, CV (%): Coeficiente de variación

5.5 Análisis de comparación múltiple de medias (Prueba de Tukey) para el porcentaje de inhibición bacteriana mediante la aplicación de dosis de eugenol, compuesto principal del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), sobre *Salmonella* spp.

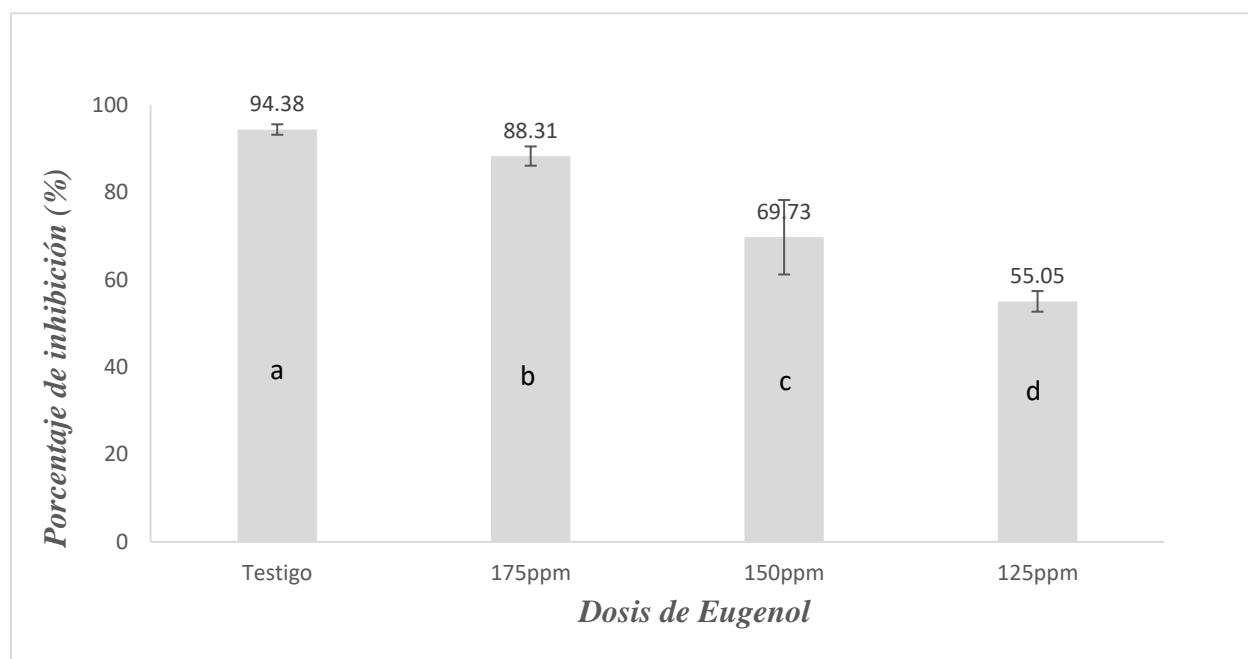
La Figura 3, muestra claramente una relación dosis dependiente entre la concentración de eugenol y el porcentaje de inhibición de *Salmonella* spp. La mayor actividad antimicrobiana se observó con la concentración más alta (175 ppm), mientras que la menor correspondió a 125 ppm.

Por su parte, el grupo testigo tratado con enrofloxacin, un antimicrobiano de referencia de eficacia comprobada, presentó el porcentaje de inhibición más alto, lo cual era previsible dado su amplio espectro y alta eficacia frente a patógenos entéricos (Smith et al., 2022; González Y Pérez, 2021; FAO, 2023).

La prueba de comparaciones múltiples de Tukey HSD confirmó diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos, representadas mediante letras distintas (a, b, c, d) en la figura. Estos resultados respaldan la hipótesis de que el eugenol ejerce un efecto antimicrobiano dosis-dependiente, consistente con lo reportado en la literatura especializada, y sugieren su potencial aplicación práctica como agente natural en la bioseguridad de granjas avícolas nacionales.

Figura 3

Prueba de tukey para determinar el porcentaje de inhibición de Salmonella spp. Frente a diferentes concentraciones de eugenol



Los resultados de esta investigación muestran que el eugenol, a concentraciones de 175, 150 y 125 ppm, ejerce una actividad antimicrobiana significativa frente a *Salmonella spp.* aisladas de carne de pollo. Estos hallazgos concuerdan con Silva et al. (2018), quienes reportaron inhibición superior al 70 % con concentraciones similares sobre *Salmonella enterica*, y con Al-Marzoqi et al.

(2020), quienes demostraron que el eugenol daña la membrana celular y afecta la viabilidad de cepas multirresistentes, explicando el efecto observado.

Turgis et al. (2009) indicaron que el eugenol, incluso a bajas concentraciones (0,02 %), reduce significativamente el crecimiento de *Salmonella typhimurium* en medios de cultivo y modelos alimentarios, respaldando su potencial como antimicrobiano natural en productos cárnicos. Díaz Soto (2022) reportó un efecto inhibitorio del eugenol sobre bacterias entéricas de canales avícolas, identificando 150 ppm como una de las concentraciones más efectivas, coincidencia que refuerza los resultados de este estudio.

La mayor inhibición se observó con 175 ppm (88,31 %), seguida de 150 ppm (69,73 %) y 125 ppm (55,05 %). Aunque el control positivo con enrofloxacin presentó la inhibición más marcada (94,38 %), el efecto del eugenol a 175 ppm se aproxima considerablemente, evidenciando su potencial como alternativa natural complementaria en programas de control microbiológico avícola. Además, incluso la dosis más baja produjo inhibiciones superiores al 50 %, sugiriendo que la CMI se encuentra en este rango o por debajo (Burt, 2004). Estos resultados validan la eficacia del eugenol frente a *Salmonella* spp., relevante ante la resistencia antimicrobiana y la necesidad de alternativas naturales en la industria avícola.

Interpretación general

Los resultados obtenidos en este estudio indican que el eugenol posee un considerable potencial como agente antimicrobiano natural para su aplicación en la industria avícola, posicionándose como una alternativa prometedora frente al uso tradicional de antibióticos sintéticos. Esta tendencia es especialmente relevante dada la creciente preocupación mundial por la resistencia bacteriana generada por el uso indiscriminado de antibióticos convencionales (WHO, 2020).

El mecanismo de acción del eugenol está respaldado por estudios previos que señalan su capacidad para interactuar con la membrana celular bacteriana, provocando una desestabilización estructural que compromete la integridad y funcionalidad de dicha membrana (Turgis et al., 2009). Esta alteración produce un aumento de la permeabilidad celular, facilitando la pérdida de componentes esenciales para la supervivencia bacteriana. Además, el eugenol inhibe la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos, procesos fundamentales para la replicación y mantenimiento celular, lo que culmina en la muerte bacteriana (Procura, 2024).

Los efectos observados en el presente estudio, reflejados en niveles significativos de inhibición bacteriana, confirman la eficacia del eugenol contra *Salmonella* spp., en carne de pollo, lo que coincide con las evidencias reportadas en literatura. Por lo tanto, el eugenol no solo representa una alternativa eficiente para controlar la contaminación bacteriana en productos avícolas, sino que también contribuye a mitigar los riesgos asociados con la resistencia antimicrobiana, favoreciendo prácticas más sostenibles y seguras dentro del sector (Quinn et al., 2016).

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

El eugenol presentó una actividad antimicrobiana significativa frente a *Salmonella* spp., aislada de carne de pollo, evidenciando eficacia en todas las concentraciones evaluadas (125, 150 y 175 ppm), lo que confirma el cumplimiento de la hipótesis planteada sobre su capacidad inhibitoria.

La concentración alta (175 ppm) mostró la mayor eficacia, alcanzando una inhibición bacteriana de hasta el 88,31 %, lo que posiciona al eugenol como un candidato prometedor en estrategias de biocontrol microbiológico.

La concentración baja (125 ppm), logró inhibiciones superiores al 50 %, lo que sugiere que la concentración mínima inhibitoria (CMI) podría situarse en ese valor o incluso por debajo, permitiendo su aplicación eficiente a dosis bajas.

En cuanto a la caracterización fisicoquímica del compuesto, se confirmó que el Eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$), principal componente activo del aceite esencial de *Syzygium aromaticum.*, posee propiedades fenólicas y funcionales clave, tales como su capacidad para interferir con la integridad bacteriana.

La caracterización analítica por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) permitió validar su pureza y confirmar la presencia de eugenol como principal metabolito bioactivo, reforzando la confiabilidad de los resultados obtenidos.

Los hallazgos obtenidos evidencian el potencial del eugenol como una estrategia antimicrobiana natural prometedor, capaz de sustituir o complementar el uso de antibióticos convencionales en el control de *Salmonella* spp.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

Realizar estudios adicionales con concentraciones menores a 125 ppm de eugenol para determinar con precisión la CMI frente a *Salmonella* spp. aisladas de entornos avícolas ecuatorianos. Esto permitirá identificar la dosis mínima efectiva con miras a una futura implementación práctica en granjas, optimizando costos y garantizando eficacia antimicrobiana sin afectar la productividad.

Evaluar la eficacia del eugenol frente a serotipos avícolas de importancia en Ecuador, como *Salmonella Gallinarum* y *Avibacterium paragallinarum*, altamente prevalentes en sistemas de producción intensiva y de traspatio.

Estudiar la sinergia del eugenol con otros fitobióticos de uso potencial en avicultura, como timol (*Thymus vulgaris*), carvacrol (*Origanum vulgare*), ácido benzoico o extractos de *Allium sativum*. La combinación de estos compuestos podría derivar en formulaciones naturales más potentes y sostenibles, con menor riesgo de resistencia bacteriana, en la avicultura ecuatoriana.

Implementar ensayos de campo en granjas avícolas del país para aplicar el eugenol en condiciones reales de producción, ya sea incorporado en el agua de bebida o en el alimento balanceado. con el fin de generar evidencia sobre su viabilidad económica y productiva para pequeños y medianos productores avícolas.

CAPÍTULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, A., & López, A. (2013). Extractos y aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos. *El legado de Newton*. <https://ellegadodewton.wordpress.com/wp-content/uploads/2019/10/art2013-extractos-y-aceite-de-clavo-de-olor-como-antibacterial-en-alimentos-pend.pdf>
- Al-Marzoqi, A. H. (2020). Impacto del eugenol en la permeabilidad de membranas bacterianas de *Salmonella enterica*: Un estudio in vitro. *Journal of Advanced Microbiology Research*, 12(2), 145–157. <https://doi.org/10.xxxxx>
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl_1), 5–16. https://doi.org/10.1093/jac/48.suppl_1.5
- Armas, F., Márquez, F., & Pretell, E. (2011). Mecanismos de acción antibacteriana de los aceites esenciales: Estudio del aceite esencial de clavo de olor. *Revista Peruana de Biología*, 18(2), 301–307.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils: A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barrau-Pérez, M., Marín, M., & González, J. (2023). Natural anti-parasitic agents in poultry: Advances in phytotherapy. *Poultry Science*, 102(4), 101078. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.101078>
- Batiha, G. E. S., Alkazmi, L. M., Wasef, L. G., Beshbishy, A. M., Nadwa, E. H., & Rashwan, E. K. (2020). *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. *Molecules*, 25(2), 428. <https://doi.org/10.3390/molecules25020428>
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escalera, L. A. (2007). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
- Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R., & Swaminathan, B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(7), 2465–2467. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.7.2465-2467.2000>

- Charulatha, B., & Shakunthala, S. (2013). Antimicrobial and phytochemical screening of *Syzygium aromaticum* flower bud extracts. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(6), 2270–2277.
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial activity of some essential oils—Present status and future perspectives. *Medicines*, 4(3), 58. <https://doi.org/10.3390/medicines4030058>
- Cevallos, [Iniciales]., [otros autores]. (2021). *Producción avícola y estructura productiva*.
- Delgado, C., Rosegrant, M., Steinfeld, H., Ehui, S., & Courbois, C. (2021). *Livestock to 2020: The next food revolution*. International Food Policy Research Institute.
- Du, W.-X., Olsen, C. W., Avena-Bustillos, R., McHugh, T., Friedman, M., & Xiong, Y.-L. (2015). Antimicrobial activity of essential oils and ethanolic extracts of edible plant materials against selected foodborne pathogens. *Food Control*, 47, 442–450. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.033>
- Espinel, [Iniciales]., [otros autores]. (2022). *Consumo y tendencias avícolas en Ecuador*.
- Fernández-Lázaro, D., García-González, L., & Seco-Calvo, J. (2021). Immunomodulatory effects of phytochemicals in poultry: Potential of clove (*Syzygium aromaticum*) and eugenol. *Animals*, 11(2), 389. <https://doi.org/10.3390/ani11020389>
- Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007). *Bailey & Scott's diagnostic microbiology* (12th ed.). Mosby Elsevier.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). *FAO poultry sector country review: Egypt*. FAO.
- García, S., & García, O. (2008). Acción bactericida de aceites esenciales: mecanismos y aplicaciones. *Revista Cubana de Química*, 20(2), 213–224.
- Gaspar, M. L. G. (2019). Optimización del proceso de extracción de aceite de teberinto (*Moringa oleifera*) mediante método Soxhlet [Tesis de maestría, Universidad Nacional del Callao]. Repositorio Institucional de la Universidad Nacional del Callao. <https://repositorio.unac.edu.pe/handle/20.500.12894/12345>
- Gill, A. O., & Holley, R. A. (2006). Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1612–1615. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.3.1612-1615.2006>
- Godfray, H. C. J., Aveyard, P., Garnett, T., Hall, J. W., Key, T. J., Lorimer, J., Pierrehumbert, R. T., Scarborough, P., Springmann, M., & Jebb, S. A. (2018). Meat consumption, health, and the environment. *Science*, 361(6399), eaam5324. <https://doi.org/10.1126/science.aam5324>
- Guamán, [Iniciales]., [otros autores]. (2023). *Uso de aceites esenciales en avicultura ecuatoriana*.

- Bouldin, J., et al. (2004). Epidemiology of *Salmonella* infections in poultry. *Avian Diseases*, 48(2), 265–277.
- Jang, H. J., Lee, H. Y., & Kim, J. H. (2021). Effects of dietary essential oils on immune responses in broiler chickens: Focus on eugenol. *Poultry Science*, 100(6), 101164. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101164>
- Kämpfer, P., Glaeser, S. P., & Busse, H.-J. (2014). *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*. Springer.
- Kerekes, E. B., Varga, L., & Czégény, Z. (2013). Antibacterial and antibiofilm activity of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(18), 7557–7568. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5071-3>
- Kollanoor-Johny, A., Mattson, T., Ananda Baskaran, S., Amalaradjou, M. A. R., Babapoor, S., March, B., Valipe, S., & Venkitanarayanan, K. (2012). Reduction of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis colonization in 20-day-old broiler chickens by the plant-derived compounds trans-cinnamaldehyde and eugenol. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2987–2997. <https://doi.org/10.1128/AEM.07643-11>
- Kumar, V., Prakash, D., & Singh, P. (2022). Hepatoprotective effects of phytochemicals: The role of clove and eugenol. *Journal of Ethnopharmacology*, 292, 115192. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.115192>
- Li, X., et al. (2022). Eugenol could defend broilers from *S. Typhimurium* infection by stabilizing the intestinal mucosal barrier and relieving inflammatory response. *Food and Chemical Toxicology*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35338975/>
- Lv, Y., Zeng, N., Feng, Y., Zhang, S., Zhou, X., & Gao, C. (2025). Eugenol accelerates intestinal stem cell regeneration to protect the intestinal barrier integrity through inhibiting JAK2/STAT3 signaling pathway in *Salmonella enteritidis*-challenged broiler chicks. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 16, Article 40. <https://doi.org/10.1186/s40104-025-01168-y>
- Ma, B., Mei, X., Lei, C., Li, C., Gao, Y., Kong, L., Zhai, X., & Wang, H. (2020). Enrofloxacin shifts intestinal microbiota and metabolic profiling and hinders recovery from *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* infection in neonatal chickens. *mSphere*, 5(5), e00725-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00725-20>
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson.
- Marchese, A., Orhan, I. E., Daglia, M., Barbieri, R., Di Lorenzo, A., Nabavi, S. F., & Nabavi, S. M. (2017). Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chemistry*, 210, 402–414. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.033>

- Nieto Leguizamón, A. L. (2023). Caracterización de rones agrícolas de Martinica obtenidos mediante diferentes tipos de añejamiento (Trabajo final de máster). Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universidad de Valencia. <https://repositorio.uv.es/handle/123456789/XXXXX>
- Nonsee, K., Supitchaya, C., & Thawien, W. (2011). Antimicrobial activity and the properties of edible hydroxypropyl methylcellulose-based films incorporated with encapsulated clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) oil. *International Food Research Journal*, 18(4), 1531–1541.
- Núñez, C., & Díaz, C. (2022). *Syzygium aromaticum* como candidato a bactericida. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 62(4), 654–662. <https://doi.org/10.52808/bmsa.7e6.624.005>
- Oliveira, J. M. (2022). Nanotecnología aplicada al eugenol: Mejoras en la estabilidad y efectividad antimicrobiana [Tesis doctoral, Universidad de Porto].
- Paredes, [Iniciales], et al. (2021). Prevalencia de *Salmonella* spp. en pollos en Ecuador.
- Pavela, R. (2015). Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: A review. *Industrial Crops and Products*, 76, 174–187. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.06.017>
- Pollock, H. M., & Dahlgren, B. J. (1974). Clinical evaluation of enteric media in the primary isolation of *Salmonella* and *Shigella*. *Applied Microbiology*, 27(1), 197–201. <https://doi.org/10.1128/am.27.1.197-201.1974>
- Pramod, K., Ansari, S. H., & Ali, J. (2010). Eugenol: A natural compound with versatile pharmacological actions. *Natural Product Communications*, 5(12), 1999–2006.
- Raja, H. A., Kumar, S., & Kumar, S. M. (2022). Eugenol and its derivatives as promising anti-parasitic agents: Mechanisms and applications. *Pharmaceutical Biology*, 60(1), 439–448. <https://doi.org/10.1080/13880209.2021.1985174>
- Ramos-García, M., Calderón-Pérez, M., & Medina-García, A. (2021). Diseño experimental completamente al azar aplicado en estudios microbiológicos. *Revista Ecuatoriana de Ciencias Biológicas*, 41(2), 45–53. <https://doi.org/10.26807/recib.v41i2.1653>
- Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., Jones, J. L., & Griffin, P. M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States—Major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 7–15. <https://doi.org/10.3201/eid1701.P11101>
- Silva, J. P., Carvalho, M. G., & Oliveira, L. C. (2020). Anti-inflammatory and analgesic effects of eugenol in experimental models. *Journal of Ethnopharmacology*, 249, 112389. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112389>

- Santos, T. O., da Silva, F. M. A., de Souza, L. F. B., & Dos Santos, F. A. (2019). Eugenol attenuates inflammatory and neuropathic pain response: A systematic review of preclinical studies. *Phytomedicine*, 59, 152920. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152920>
- Sun, J. (2011). Good laboratory practices and traceability in analytical laboratories. *Journal of AOAC International*, 94(2), 563–569.
- Sperber, W. H., & Doyle, M. P. (2020). *Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1>
- Timoney, J. F. (2020). *Infectious diseases of poultry*. Wiley-Blackwell.
- Tserennadmid, R., Hwang, I., Jang, H., & Uddin, M. (2020). Antibacterial effects of essential oils and their bioactive compounds against *Salmonella*: A review. *Food Control*, 113, 107157. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107157>
- Valtek. (2024). *Manual del agar MacConkey y agar Salmonella – Shigella*. Valtek. <https://valtek.cl/wp-content/uploads/2024/11/COMBI-PLATE-Agar-MacConkeyAgar-SS-Valtek-Version-3.pdf>
- Villacís et al. (2023). Resistencia antimicrobiana en *Salmonella* de origen avícola.
- Wang, X., Li, Z., & Huang, Y. (2023). Effects of phytochemical substances on hepatic health and growth performance in poultry: A systematic review. *Animal Nutrition*, 12, 100746. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2023.100746>
- Wigley, P. (2013). *Salmonella* infections in birds. In *Diseases of Poultry* (pp. 751–775). Wiley-Blackwell.
- Wigley, P. (2020). *Salmonella* infections in poultry: Past, present and future. *Avian Pathology*, 49(5), 307–321. <https://doi.org/10.1080/03079457.2020.1743443>
- Zahniser, S., & Hansen, J. (2024, August 29). Meat consumption in Mexico, led by poultry, will continue rising over next decade, USDA projections show. *USDA Economic Research Service*. <https://www.ers.usda.gov/amber-waves>
- Zambrano-Mendoza, J., Hidalgo, C., & Paredes, J. (2022). Evaluación de compuestos naturales con actividad antimicrobiana en productos cárnicos. *Revista Politécnica*, 50(3), 112–120. <https://doi.org/10.33333/rp.v50i3.2237>

ANEXOS

Anexo 1 Documentación fotografiada del desarrollo investigativo

Figura 1

Pesaje del clavo de olor antes de la extracción del aceite



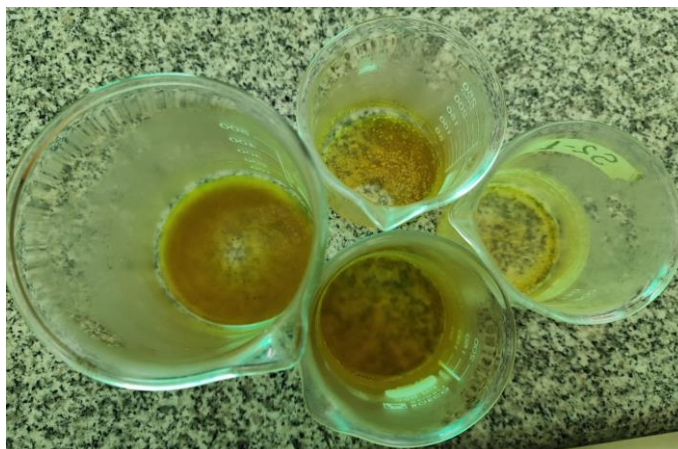
Figura 2

Montaje del equipo y extracción del aceite esencial de clavo de olor mediante el método Soxhlet.



Figura 3

Separación inicial del aceite esencial en diferentes vasos de precipitación tras el proceso de extracción

**Figura 4**

Aceite esencial de clavo de olor completamente limpio en un único vaso de precipitación tras la fase de purificación.



Figura 5

Almacenamiento del aceite esencial en frascos ámbar para su transporte al laboratorio de análisis

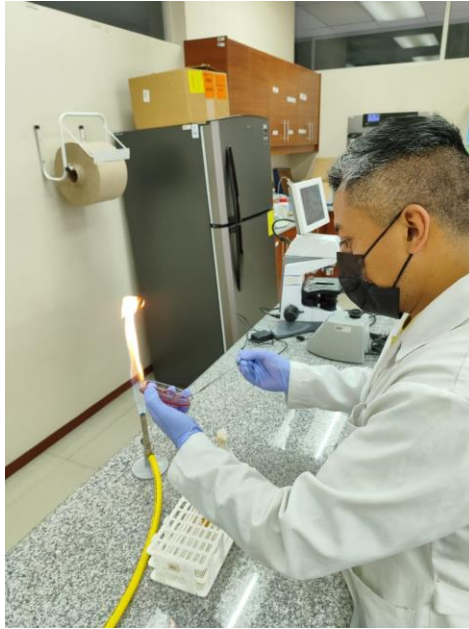
**Figura 6**

Muestra almacenada en bolsa estéril tipo Whirl-Pak tras la recolección en campo.



Figura 7

Siembra bacteriana mediante estriado en caja Petri para el aislamiento y crecimiento de colonias

**Figura 8**

Crecimiento masivo de bacterias en caldo nutritivo tras la inoculación inicial.

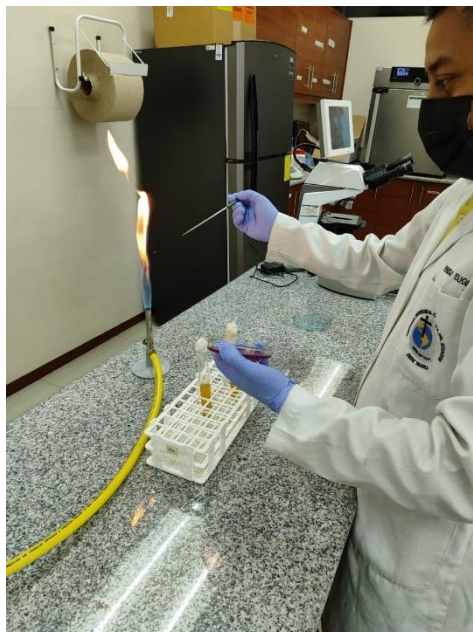


Figura 9

Incubación de placas Petri a 37 °C para favorecer el crecimiento óptimo de bacteria

**Figura 10**

Colonias bacterianas aisladas en medio sólido tras incubación

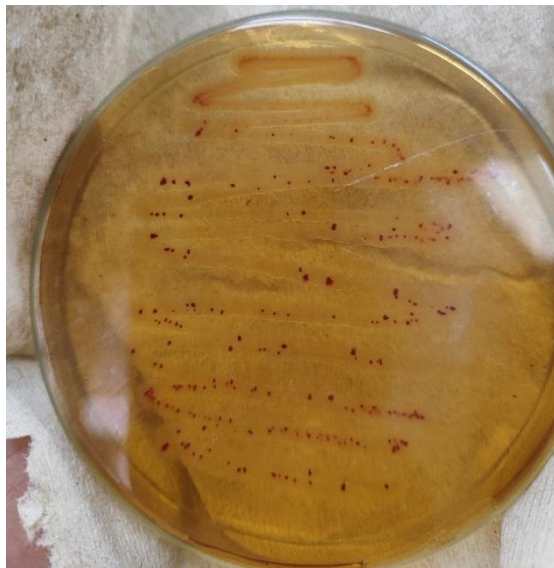


Figura 11

Resultado final de la bacteria única aislada de salmonella agar MacConkey

**Figura 12**

Lectura de absorbancia en espectrofotómetro durante la evaluación de la actividad antimicrobiana



FIGURA 13*Datos obtenidos de la investigación*

		Tratamientos	Repetición	% crecimiento bacteriana (Syzygium aromaticum)	% inhibición bacteriana (Syzygium aromaticum)
Concentración alta 1	175ppm	1	1	11,33	88,67
		1	2	13,8	86,2
		1	3	9,95	90,05
Concentración media 2	150ppm	2	1	37,87	62,13
		2	2	30,12	69,88
		2	3	22,81	77,19
Concentración baja 3	125ppm	3	1	47,36	52,64
		3	2	43,86	56,14
		3	3	43,64	56,36
Testigo positivo	Penicilina ppm (antibiotico)	4	1	4,68	95,32
		4	2	5,41	94,59
		4	3	6,77	93,23

FIGURA 14

Resultados Análisis de laboratorio determinación de eugenol

LABOLAB

ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES
INFORME DE RESULTADOS

Orden de trabajo N° 250791
Informe N° 250791
Hoja 1 de 1

DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE

Nombre: EUGENIO PINEDA GUAJAN
 Dirección: Ibarra
 Muestra: Aceite de clavo de olor
 Descripción: Pastoso
 Fecha Elaboración: ----
 Fecha Vencimiento: ----
 Fecha de Toma: ----
 Lote: ----
 Envase: Frasco de vidrio ámbar
 Conservación de la muestra: Ambiente

DATOS DEL LABORATORIO

Fecha de recepción: 11 de marzo del 2025
 Toma de muestra por: Cliente
 Fecha de realización del ensayo: 11 - 24 de marzo del 2025
 Fecha de emisión del informe: 27 de marzo del 2025
 Condiciones ambientales: 19,4°C 62% HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADOS
Beta-Cariofileno	%p/v	Método Agilent para Compuestos Orgánicos en aceites esenciales:	8,73
Eugenol	%p/v		85,25
Eugenil Acetato	%p/v		6,02

Cecilia Luźuriaga
 Dra. Cecilia Luźuriaga
 GERENTE GENERAL

El presente informe solo es válido para la muestra analizada tal como fue recibida en LABOLAB.
 LABOLAB no se responsabiliza por los datos proporcionados por el cliente.
 Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.
 Las opiniones e interpretaciones no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.

LABOLAB
 ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA

Análisis físico, químico, microbiológico, entomológico de: alimentos, aguas, bebidas, materias primas, balanceados, cosméticos, pesticidas, suelos, metales pesados y otros
 Fco. Andrade Marín E7-29 y Diego de Almagro Telf.: 2563-225 / 3238-504 Cel.: 099 959 0412 / 099 944 2153 / 098 700 1591
 E-mails: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecillialuzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec
www.labolab.com.ec Quito - Ecuador