

Extractos y aceite esencial del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su potencial aplicación como agentes antimicrobianos en alimentos

A. E. Aguilar-González* y A. López-Malo

Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental, Universidad de las Américas Puebla.

Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés, Cholula, Puebla. C.P.72810. México.

RESUMEN

La aplicación de aceites esenciales de plantas y especias en distintos campos tales como gastronomía, medicina y en la industria de los alimentos es numerosa. El clavo de olor, *Syzygium aromaticum*, también conocido como *Eugenia caryophyllata*, es una especia ampliamente usada y conocida. Su aceite esencial y extractos han sido analizados y caracterizados debido a que han demostrado tener amplio espectro de acción contra una gran variedad de microorganismos causantes de distintos padecimientos que afectan a humanos, animales y plantas. El objetivo de este documento es recopilar algunos de los aspectos más relevantes acerca de esta especia, resaltando la actividad antimicrobiana de sus extractos y aceite esencial y el uso potencial de éstos en la industria de los alimentos.

Palabras clave: *Syzygium aromaticum*, *Eugenia caryophyllata*, aceites esenciales, antimicrobianos naturales, clavo de olor.

ABSTRACT

There are many applications of essential oils from plants and spices in several fields, such as gastronomy, medicine, food industry, among others. *Syzygium aromaticum*, also known as *Eugenia caryophyllata*, is a spice widely used and known. Its essential oil and extracts have been analyzed and characterized, because it has been demonstrated to have a wide action spectrum against many microorganisms, which cause several diseases that affect humans, animals and plants. The aim of this document is to collect some of the most relevant aspects about this spice, standing out the antimicrobial activity of its extracts and essential oil and the potential application of them in the food industry.

Keywords: *Syzygium aromaticum*, *Eugenia caryophyllata*, essential oils, antimicrobial activity, clove.

* Programa de Doctorado
en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126
Fax: +52 222 229 2727
Dirección electrónica:
anae.aguilarglez@udlap.mx

Introducción

En la actualidad, cada vez son más los consumidores que buscan o prefieren adquirir productos naturales, orgánicos o mínimamente procesados, sin que se comprometa la inocuidad de los alimentos (Trajano, Lima, Souza y Travazzos, 2010). Para satisfacer algunas de estas demandas, uno de los más grandes retos de la industria de alimentos consiste en reducir los aditivos químicos convencionales en la formulación y producción de éstos (Sánchez-González, Vargas, González-Martínez, Chiralt y Cháfer, 2011). Con esto en mente, se ha redirigido la atención hacia los productos naturales que las plantas y especias pueden proveer, debido a que muchos de estos productos han demostrado tener propiedades adicionales, no sólo el aportar sabor y olor, sino también cualidades medicinales y de conservación para extender la vida útil y prevenir el deterioro de alimentos, el cual tiene gran impacto económico al disminuir las pérdidas por esta causa (Sethi, Dutta, Gupta y Gupta, 2013; Radha *et al.*, 2013). Las pérdidas, llegan a representar hasta un 50 % en los países en vías de desarrollo y la mayoría se deben a microorganismos fito-patógenos (Ippolito y Nigro, 2000).

Asimismo, las propiedades antimicrobianas de los compuestos activos de plantas y especias están fuertemente fundamentadas por las distintas investigaciones en los campos clínicos y de alimentos, y por su efecto en bacterias y hongos patógenos. De hecho, recientemente, el uso de estos compuestos activos se ha incrementado al proponerlos como aditivos naturales en la industria de los alimentos. Los agentes antimicrobianos, incluyendo a los llamados conservadores y a algunos ácidos orgánicos, han sido utilizados de manera tradicional en la industria para inhibir el crecimiento de diversos microorganismos y así extender la vida de anaquel de una gran variedad de alimentos procesados (Sethi *et al.*, 2013).

El clavo (*Syzygium aromaticum*) es una especia ampliamente aprovechada en la perfumería y la medicina; dentro de la industria alimentaria, su aceite esencial es utilizado mayormente como saborizante (Zheng, Kenney y Lam, 1992). Existe mucha información acerca de las funciones antimicrobianas de este aceite esencial contra patógenos transmitidos por el consumo de alimentos (Sethi *et al.*, 2013), e incluso, contra microorganismos resistentes a antibióticos y a antifúngicos (Moura *et al.*, 2012). El objetivo de esta revisión, es recopilar información del clavo de olor, así como del efecto antimicrobiano de su aceite esencial y extractos.

Revisión bibliográfica

1. Generalidades de *Syzygium aromaticum*

El clavo de olor (*Syzygium aromaticum* o *Eugenia caryophyllata*) es una especia perteneciente a la familia *Myrtaceae*, la cual se caracteriza por habitar en ambientes principalmente tropicales (Singh, Baghotia y Goel, 2012; Moura *et al.*, 2012). Es originaria de Indonesia, y actualmente se cultiva en Brasil, Haití, India, Kenia, Madagascar, Malasia, Mauricio, México, Seychelles, Sri Lanka, Tanzania, entre muchos otros países. Crece en suelos ricos en humus arcillosos, así como en suelos lateríticos (propios de las regiones cálidas, pobres en sílice y altos en hierro y alúmina), profundos y sueltos (Orwa Mutua, Kindt, Jamnadass y Anthony, 2009).

Se obtiene de un árbol perenne que florece dos veces al año. Los botones florales tienen inicialmente un color pálido que poco a poco se convierte en verde para después tornar a un color rojo o marrón oscuro (Singh *et al.*, 2012). Los clavos, son los capullos sin abrir y se cosechan cuando las hojas verdes externas (cáliz) han cambiado de color verde a un amarillo-rojo (Pandey y Singh, 2011). Los tallos, las hojas y los botones sin abrir son las partes de esta especia que se utilizan principalmente para la extracción de aceite esencial (Srivastava, Srivastava y Syamsundar, 2005).

El aceite de clavo de olor ha sido ampliamente investigado debido a su popularidad, vasta disponibilidad y alto rendimiento. De hecho, el aceite de esta especia, ha sido considerado por sus propiedades medicinales, como estimulante contra trastornos digestivos y diarrea, según la información proporcionada por Machado *et al.* (2011). Además, con base en lo que citan Moura *et al.* (2012), posee muy variados efectos dentro de las que destacan el antiséptico, analgésico, antibacteriano, antifúngico, anestésico y antimutagénico. De acuerdo a Pandey y Singh (2011) y Rana, Rana y Charan (2011), se ha reportado que los brotes o botones de *S. aromaticum* también se utilizan en la medicina popular como diurético, en odontología como antiséptico, como cardiotónico y como condimento con actividad carminativa. Se ha utilizado para el tratamiento de asma y diversos trastornos alérgicos en Corea (Park *et al.*, 2007).

De igual manera, Ahmed (2011), al saber que los antibióticos se pueden utilizar como promotores del crecimiento en animales (Torres y Zarazaga, 2002), desarrolló un estudio en pollos empleando aceite esencial de *S. aromaticum* como alternativa natural para estimular el crecimiento en estos animales. De este estudio se reportó que los pollos tratados con

aceite de clavo tuvieron un aumento en peso corporal con respecto a los controles y a los tratados con antibióticos, al adicionar a la dieta una dosis de hasta 600 mg /kg por día.

Cabe mencionar que el aceite de *S. aromaticum* también ha demostrado poseer actividad antioxidante, tal como lo destacan Silvestri *et al.* (2010), quienes se basaron en la medida de la desaparición de la absorción del radical 2,2-difenil-1-picrilo hidracilo (DPPH). Los resultados muestran que el porcentaje antioxidante del aceite esencial de clavo aumentó proporcionalmente a la concentración de aceite añadido, alcanzando un máximo con una concentración de 10,000 µg/mL, por lo que concluyen que este aceite puede ser considerado como una alternativa de antioxidante para la formulación de nuevos productos alimenticios.

Por último, Nerio, Olivero-Verbel y Stashenko (2010) encontraron que el aceite de clavo también posee efecto repelente contra especies de insectos como el mosquito de la fiebre amarilla (*Aedes aegypti*), el mosquito vector de filariasis (*Culex quinquefasciatus*) y el mosquito vector de malaria (*Anopheles dirus*). Esta actividad fue confirmada en el trabajo realizado por Phasomkusolsil y Soonwera (2011) donde se prepararon soluciones de extracto de diferentes especias con aceite de soya en concentraciones de 1%, 5% y 10%, para después exponer a los insectos y así evaluar el efecto de dichas soluciones. En este caso, *C. quinquefasciatus* y *A. dirus* resultaron ser consideradas sensibles a la solución al 10% de *S. aromaticum*. Por otro lado, *A. aegypti* mostró resistencia a todas las concentraciones probadas.

Aunado a los estudios señalados, existe un particular interés en evaluar la actividad antimicrobiana de extractos y aceite esencial de clavo de olor, de tal manera que pudieran ser empleados en la industria de alimentos como alternativas a agentes antimicrobianos tradicionales.

2. Obtención del aceite esencial y algunos extractos de *S. aromaticum*

2.1 Métodos de extracción de aceite esencial de *S. aromaticum*

La destilación por arrastre de vapor es uno de los métodos más populares para la obtención de aceites esenciales, ya que según Jiang *et al.* (2010), esta técnica puede extraer la mayor parte de todos los componentes volátiles de la especia y se puede utilizar para llevar a cabo la extracción cuantitativa y preparativa. De acuerdo a Cerpa-Chávez (2007), este proceso también puede ser conocido como extracción por arrastre, hidrodesti-

lación, hidrodifusión o hidroextracción; sin embargo, establece que la diferencia entre estos términos radica en la forma de empleo del vapor generado. La materia prima puede estar molida como se realizó en los trabajos de Rana *et al.* (2011) y Rahnama, Najimi y Ali (2012) o también puede estar cortada, entera o la combinación de éstas (Sethi *et al.*, 2013).

Otra metodología de extracción más recientemente desarrollada, es por medio de dióxido de carbono supercrítico, este método evita la degradación térmica e hidrolítica de los compuestos lábiles del aceite esencial (Geng *et al.*, 2007). Otra ventaja de esta tecnología, es que el tiempo que toma el proceso se reduce significativamente. La extracción con dióxido de carbono líquido a baja temperatura y alta presión produce un perfil organoléptico más natural, aunque es más costoso (Sánchez-González *et al.*, 2011). De la misma manera, la presencia de residuos de los disolventes (en algunos casos tóxicos) puede evitarse en caso de realizar la extracción por maceración.

Por último, en el trabajo de Zhai *et al.* (2011) se utilizó una variación de la hidrodestilación, donde esta técnica se acopla al uso de microondas. En este caso, se agregaron polvos de hierro carbonílico a la muestra de clavo seco (como medio de absorción de microondas) para extraer los aceites durante la destilación. El tiempo de extracción fue de menos de 7 min a una potencia de microondas de 440 W. Al mismo tiempo, esta técnica fue comparada con la hidrodestilación tradicional, donde no hubo grandes diferencias en cuanto a los componentes obtenidos de los aceites esenciales recuperados por ambos métodos; sin embargo, el tiempo de extracción y el tamaño de la muestra requeridos son menores en el caso del acoplamiento a microondas.

2.2 Obtención de extractos de *S. aromaticum*

Por otro lado, existe una alternativa para obtener los compuestos fitoquímicos de *S. aromaticum*, que es a través de la obtención de extractos de partes específicas de esta especia con distintos disolventes.

Por ejemplo, en el trabajo realizado por Nassar *et al.* (2007), usaron los botones molidos de *S. aromaticum*, que fue sometido a extracciones sucesivas con diferentes disolventes (n-hexano, diclorometano y etanol). De manera similar, Pandey y Singh (2011) utilizaron etanol al 70% ó metanol al 80% para, por último, filtrar y evaporar el disolvente.

Jiang *et al.* (2010) establecen que la metodología de extracción con disolventes, por lo general requiere una gran cantidad de material vegetal y consumen mucho tiempo, además de que suelen tener baja eficiencia de extracción, así como

la degradación de los compuestos insaturados o ésteres por efectos de hidrólisis. Otra desventaja es que este método puede dejar restos tóxicos de los disolventes orgánicos utilizados.

3. Caracterización fisicoquímica del aceite esencial de *S. aromaticum*

El aceite esencial de clavo es un líquido incoloro o de color amarillo-marrón claro. Tiene un aroma característico y sabor pungente, es miscible en etanol y en dietil éter; es ligeramente miscible en agua y adquiere un color marrón con el envejecimiento o en contacto con el aire (Japanese Pharmacopoeia, 2001). Es fotosensible y termolábil, por lo que la vida de almacenamiento es corta si no se protege adecuadamente (Nonsee, Supitchaya y Thawien, 2011).

Una vez obtenido el aceite, se pueden determinar los componentes de la mezcla por diferentes técnicas, siendo la principal el análisis mediante cromatografía de gases (CG) acoplado a un espectrómetro de masas (EM) como se reporta en los trabajos de Srivastava *et al.* (2005), Costa *et al.* (2011), Moura *et al.* (2012), entre muchos otros. Sin embargo, Rana *et al.* (2011) fraccionaron primero el aceite mediante técnicas de cromatografía en columna, para posteriormente analizar las fracciones por medio de cromatografía de capa fina. Después, lo analizaron con cromatografía líquida de alta eficacia para así identificar los componentes.

De acuerdo al estudio realizado por Costa *et al.* (2011), la composición del aceite obtenido por arrastre de vapor presenta en su composición al eugenol (83.6%); acetato de eugenilo (11.6%) y cariofileno (4.2%) como componentes mayoritarios, aunque Moura *et al.* (2012) establecen que estas cantidades pueden variar de la siguiente manera: eugenol 49-87%, cariofileno (4-21%) y acetato de eugenilo (0.5-21%), y adiciona a esta información la presencia en pequeñas cantidades de α -humuleno. Cabe mencionar que la composición química puede variar. Srivastava *et al.* (2005), reportaron la identificación de por lo menos 28 constituyentes en el aceite esencial de clavo de la India, mientras que se identificaron 35 y 22 componentes para los aceites esenciales obtenidos de los botones y las hojas del clavo de Madagascar, respectivamente. Destacan también que de 23 componentes que son comunes entre los aceites de los botones de las dos variedades (clavo de la India y clavo de Madagascar), se observaron diferencias significativas con respecto al acetato de eugenilo (2.1 y 6.0%), α -humuleno (1.9 y 0.8%), (E) α -bergamoteno (1.3 y 0.2 %), iso-eugenol-I (0.8 y 0.1%), γ -cadineno (0.8 y 0.2%), (E)-nerolidol (0.1 y 0.4%), alo-aromadendreno (0.3 y 0.1%) y selineno (0.1 y 0.3%).

4. Actividad antimicrobiana del aceite esencial y extractos de clavo

Los componentes activos de las especias que tienen actividad contra los microorganismos son en su mayoría metabolitos secundarios como alcaloides, glucósidos, entre otros (Pandey y Singh, 2011).

Rahnama *et al.* (2012) atribuyen la actividad antimicrobiana del aceite esencial de clavo, a los compuestos fenólicos, así a mayor cantidad de compuestos fenólicos en el aceite esencial la actividad antimicrobiana será mayor. Dicho efecto es explicado por Nonsee *et al.* (2011) afirmando que estos compuestos pueden desnaturalizar a las proteínas y al mismo tiempo reaccionan con los fosfolípidos de la membrana celular, cambiando así su permeabilidad y produciendo la muerte microbiana.

Por otro lado, Packiyasothy y Kyle (2002), reconocen que el método de extracción influye en la composición, y por lo tanto, en la actividad antimicrobiana del aceite esencial.

4.1 Actividad antibacteriana

Gupta, Garg, Uniyal y Gupta (2009) condujeron un estudio para analizar comparativamente las actividades antimicrobianas tanto del aceite, como del extracto etanólico de *S. aromaticum*. En esta investigación, los microorganismos elegidos fueron *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados obtenidos mostraron que el extracto etanólico fue efectivo contra casi la totalidad de los microorganismos estudiados, siendo *S. aureus* el más sensible, al mostrar el menor valor de concentración mínima inhibitoria (CMI). Otras bacterias sensibles a esta prueba fueron *B. cereus*, *B. subtilis* y *Bacillus spp.* Para el caso del aceite esencial, destacan que tuvo efecto contra casi todas las bacterias, además, el menor valor de CMI, en este caso, se obtuvo contra *S. epidermidis*. En ambos casos, no hubo efecto contra *P. aeruginosa*. Por último, apuntaron que los valores de CMI del aceite esencial obtenidos fueron mucho mayores que los del extracto.

Leonard, Virijevic, Regnier y Combrinck (2010) probaron otros dos aceites esenciales además de *S. aromaticum*, incluyeron el de limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y de hierbabuena (*Mentha spicata*), en este caso se evaluó la actividad antimicrobiana de los aceites contra *L. monocytogenes*, los tres aceites tuvieron efecto estimulante en el crecimiento de la biocapa de *Listeria*, contrario al efecto inhibitorio encontrado cuando se evaluó la combinación de éstos, por lo que los

autores explicaron que este efecto probablemente se debió a la sinergia entre los componentes de cada aceite esencial.

Otros microorganismos afectados por extractos de *S. aromaticum* incluyen a *E. coli*, *B. subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus* y *Proteus vulgaris*, tal como se comprobó en el trabajo realizado por Sethi *et al.* (2013), en donde se utilizó el extracto metanólico de esta especie, el cual inhibió el crecimiento de las bacterias mencionadas. Esta actividad inhibitoria fue mejor en comparación con el resto de extractos metanólicos de las 7 especies incluidas en esta investigación: jengibre (*Zingiber officinale*), ajo (*Allium sativum*), comino (*Cuminum cyminum*), mostaza (*Brassica juncea*), grosella espinosa india (*Emblia officinalis*), sábila (*Aloe vera* L.) y azafrán (*Crocus sativus*).

4.2 Actividad antifúngica

La actividad antifúngica del aceite esencial de *S. aromaticum* abarca diversas especies de hongos y levaduras, por ejemplo: especies de *Candida* (principalmente *Candida albicans*), *Cryptococcus neoformans*, especies de *Aspergillus*, hongos aislados de *Onychomycosis* (infección de uñas), *Saccharomyces cerevisiae* y varios dermatofitos (Rana *et al.*, 2011; Machado *et al.* 2011) y, de acuerdo a Rana *et al.* (2011), esta actividad se debe principalmente al eugenol que contiene este aceite.

Omidbeygi, Barzegar, Hamidi y Naghdibadi (2007) probaron la actividad antifúngica de tres aceites esenciales: de tomillo (*Thymus vulgaris*), de ajedrea (*Satureja hortensis*) y clavo, contra *Aspergillus flavus*. Los resultados *in vitro* mostraron que el aceite esencial de tomillo tuvo la mayor actividad antifúngica, seguido de ajedrea y aceite esencial de clavo de olor. La inhibición completa del crecimiento del moho se observó con 350 y 500 ppm de tomillo y ajedrea, respectivamente; mientras que el porcentaje de inhibición con el aceite de clavo fue de 87.5% con 500 ppm.

Esta actividad antifúngica del aceite esencial de clavo, no sólo se ha probado *in vitro*, también ha sido estudiada en alimentos, con el fin de probar su eficacia como conservador o antimicrobiano, por ejemplo, Omidbeygi *et al.* (2007) emplearon los aceites de tomillo, ajedrea o clavo en pasta de tomate; los resultados de inhibición después de la adición de 500 ppm de cada aceite fueron 87%, 59% y 48% para tomillo, ajedrea y clavo, respectivamente. Seetha y Naidu (2010) inocularon tomates y frutos de grosella con esporas de cepas de *Aspergillus*, *Mucory* *Rhizopus* por el método de punción, tanto antes como después del tratamiento con aceite esencial de clavo, eucalipto o limón. De los tres aceites esenciales probados, el

aceite de clavo mostró considerablemente más actividad frente a las cepas de mohos.

Hassani *et al.* (2011) condujeron experimentaciones con diversos aceites esenciales (además de *S. aromaticum*) aplicados por atomización para controlar el crecimiento de mohos en chabacano (*Prunus armeniaca*) inoculado con *Monilia fructicola* y *Botrytis cinerea*, durante el almacenamiento postcosecha. En este caso, se redujeron tanto la incidencia como la severidad de la infección de las frutas tratadas al adicionar los aceites esenciales en comparación con los controles, además la máxima actividad antifúngica se obtuvo a concentraciones de 600 µL/L en todos los aceites; sin embargo, la eficacia del aceite de clavo en la reducción de la incidencia en los chabacanos inoculados con *B. cinerea*, fue mayor que la de los otros aceites.

Conclusiones

El aceite esencial y los extractos de clavo poseen compuestos con una vasta y efectiva actividad antimicrobiana contra gran variedad de organismos, tanto bacterias, mohos y levaduras, la cual puede ser aprovechada dentro de los distintos campos de la industria alimentaria, como aditivos naturales alternativos a los antimicrobianos sintéticos naturales y así extender la vida útil de los alimentos procesados. De igual manera, el aceite esencial también puede ser una alternativa natural como desinfectante o como conservador en la industria hortofrutícola durante la postcosecha. Es importante destacar que en la actualidad diversos proyectos de investigación con aceites esenciales de plantas se llevan a cabo para aprovechar las diversas virtudes que éstos ofrecen con distintos fines, dentro de los cuales las propiedades antimicrobianas, como las del clavo, son de gran interés para la industria de los alimentos y así satisfacer las demandas de los consumidores al ofrecer productos más naturales y de buena calidad.

Agradecimientos

La autora A. E. Aguilar-González agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el apoyo en el financiamiento de sus estudios de posgrado.

REFERENCIAS

- Ahmed, M. (2011). The effect of dietary clove oil on broiler performance. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(7): 49-51.
- Cerpa-Chávez, M. (2007). *Hidrodestilación de aceites esenciales: modelado y caracterización*. Tesis de Doctorado no publicada. Universidad de Valladolid. España.
- Costa, A.R.T., Amaral M.F.Z.J., Martins, P.M., Paula J.A.M., Fiúza, T.S., Tresvenzol, L.M.F, Paula, J.R., y Bara M.T.F. (2011). Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. y L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. *Revista Brasileira de Especies Medicinaiis*, 13(2):240-245.
- Geng, Y., Liu, J., Lv, R., Yuan, J., Lin, Y., y Wang, X. (2007). An efficient method for extraction, separation and purification of eugenol from *Eugenia caryophyllata* by supercritical fluid extraction and high-speed counter-current chromatography. *Separation and Purification Technology*, 57:237-241.
- Gupta, C., Garg, A.P., Uniyal, R.C. y Gupta, S. (2009). Comparison of antimicrobial activities of clove oil y its extract on some food borne microbes. *The Internet Journal of Microbiology*, 7(1) . Consultado el 4 de Septiembre de 2013. <http://ispub.com/IJMB/7/1/13649>
- Hassani, A., Fathi, Z., Ghosta, Y., Abdollahi, A., Meshkatalasadat, M. H. y Marandi, R.J. (2011). Evaluation of plant essential oils for control of postharvest brown and gray mold rots on apricot. *Journal of Food Safety*, 32:94-101.
- Ippolito, A., y Nigro, F. (2000). Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. *Crop Protection*, 19, 715-723.
- Japanese Pharmacopoeia. (2001). *The Japanese Pharmacopoeia*. Consultado el 4 de Septiembre de 2013. http://jpd.db.nihs.go.jp/jp14e/14data/Part-II/Clove_Oil.pdf.
- Jiang, C., Sun, Y., Zhu, X., Gao, Y., Wang, L., Wang, J., Wu, L. y Song, D. (2010). Solvent-free microwave extraction coupled with headspace single-drop microextraction of essential oils from flower of *Eugenia caryophyllata* Thunb. *Journal of Separation Science*, 33, 2784-2790.
- Leonard, C., Virijevic, S., Regnier, T. y Combrinck, S. (2010). Bioactivity of selected essential oils and some components on *Listeria monocytogenes* biofilms. *South African Journal of Botany*, 76, 676-680.
- Machado, M., Dinis, A.M., Salgueiro, L., Custódio J. B. A., Cavaleiro, C. y Sousa, M.C. (2011). Anti-Giardia activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol: Effects on growth, viability, adherence and ultrastructure. *Experimental Parasitology*, 127, 732-739
- Moura, J., Sarmiento, F.Q., de Oliveira, F., Pereira, J., Nogueira, V. y de Oliveira E. (2012). Actividad antifúngica del aceite esencial de *Eugenia caryophyllata* sobre cepas de *Candida tropicalis* de aislados clínicos. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Especies Medicinales y Aromática*, 11(3): 208-217.
- Nassar, M., Gaara, A. H., El-Ghorab, A. H., Farrag, A. H., Shen, H., Huq, E. y Mabry T. J. (2007). Chemical constituents of clove (*Syzygium aromaticum*, Fam .Myrtaceae) and their antioxidant activity. *Revista Latinoamericana de Química*, 35 (3): 47-57.
- Nerio, L., Olivero-Verbel, J., y Stashenko, E. (2010). Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101, 372-378.
- Nonsee, K., Supitchaya, C. y 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.
- Omidbeygi, M., Barzegar, M., Hamidi, Z. y Naghdibadi, H. (2007). Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 18, 1518-1523.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R. y Anthony, S. (2009). *World Agroforestry Center* Consultada el 21 de Agosto de 2013, http://www.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Syzygium_aromaticum.pdf
- Packiyasothy, E.V. y Kyle, S. (2002). Antimicrobial properties of some herb essential oils. *Food Australia*, 54, 384- 387.
- Pandey, A., y Singh, P. (2011). Antibacterial activity of *Syzygium aromaticum* (clove) with metal ion effect against food borne pathogens. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 1(2), 69-80.
- Park, M., Gwak, K., Choi, W., Jo H., Chang, J., Jeung, E., y Choi, I. (2007). Antifungal activities of the essential oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their constituents against various dermatophytes. *The Journal of Microbiology*, 45(5), 460-465.

- Phasomkusolsil, S., y Soonwera, M. (2011). Efficacy of herbal essential oils as insecticide against *Aedes aegypti* (Linn.), *Culex quinquefasciatus* (Say) and *Anopheles dirus* (Peyton and Harrison). *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 42(5), 1083-1092.
- Radha, K., Sivarajan, M., Babuskin, S., Archana G., Azhagu, P. y Sukumar, M. (2013). Kinetic modeling of spice extraction from *S. aromaticum* and *C. cassia*. *Journal of Food Engineering*, 117, 326-332.
- Rahnama, M., Najimi, M. y Ali, S. (2012). Antibacterial effects of *Myristica fragrans*, *Zataria multiflora* Boiss, *Syzygium aromaticum*, and *Zingiber officinale* Rosci essential oils, alone and in combination with nisin on *Listeria monocytogenes*. *Comparative Clinical Pathology*, 21, 1313-1316.
- Rana, I., Rana, A. y Charan R. (2011). Evaluation of antifungal activity in essential oil of the *Syzygium aromaticum* (L) by extraction, purification and analysis of its main component eugenol. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 2169-1277.
- Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A. y Cháfer M. (2011). Use of essential oils in bioactive edible coatings. *Food Engineering Reviews*, 3, 1-16.
- Seetha, B., y Naidu, K. (2010). Antimicrobial efficacy of essential oil *Syzygium aromaticum* against common infectants of storage cereals and fruits. *Journal of Pharmacy Research*, 3 (10), 2544-2545.
- Sethi, S., Dutta, A., Gupta B. L. y Gupta, S. (2013). Antimicrobial activity of spices against isolated food borne pathogens. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5 (1), 260-262.
- Silvestri, J., Paroul, N., Czyewski, E., Lerin, L., Rotava, I., Cansian, R. L., Mossi, A., Toniazzo, G., de Oliveira, D. y Treichel, H. (2010). Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). *Revista Ceres*, 57 (5), 589-594.
- Singh, J., Baghotia, A. y Goel, S. P. (2012). *Eugenia caryophyllata* Thunberg (Family Myrtaceae): A Review. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3(4), 1469-1475.
- Srivastava, A., Srivastava, S. K. y Syamsundar, K. V. (2005). Bud and leaf essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from India and Madagascar. *Flavour and Fragrance Journal*, 20, 51-53.
- Torres, C., y Zarazaga, M. (2002). Antibióticos como promotores del crecimiento en animales: ¿Vamos por el buen camino? *Gaceta Sanitaria*, 16(2), 109-112.
- Trajano, V., Lima, E., Souza, E. y Travazzos, A. E. R. (2010). Inhibitory effect of the essential oil from *Eugenia caryophyllata* Thumb leaves on coalho cheese contaminating microorganisms. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30 (4), 1001-1006.
- Zhai, Y., Sun, S., Wang, Z., Zhang, Y., Liu, H., Sun, Y., Zhang, H. y Yu, A. (2011) Headspace single drop microextraction coupled with microwave extraction of essential oil from plant materials. *Journal of Separation Science*, 34, 1069-1075
- Zheng, G.Q., Kenney, P.M. y Lam, L.K. (1992). Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. *Journal of Natural Products*, 55, 999-1003.