



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación de la actividad antifúngica de canela (*cinnamomum verum*) y clavo de olor (*syzygium aromaticum*) frente a cepas de *Candida* sp., *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp.

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Patricio Israel Aviles Vega

Tutor: Mg. María Daniela Garcés Moncayo

Ambato – Ecuador

Julio – 2026

APROBACIÓN DEL TUTOR

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

CERTIFICA:

Que el presente Informe del Trabajo de Titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 05 de junio de 2026



Validar únicamente en FirmaBC.
Firmado electrónicamente por:
**MARIA DANIELA
GARCÉS MONCAYO**

Mg. María Daniela Garcés Moncayo

18XXXXXXX85

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Patricio Israel Aviles Vega, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Patricio Israel Aviles Vega

05XXXXXXX45

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga uso de este Informe Final del Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Patricio Israel Aviles Vega

05XXXXXX45

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Presidente del Tribunal



Mg. Danae Fernández Rivero

17XXXXXXX09



Dra. Helena Maritza De La Torre Olvera

13XXXXXXX98

Ambato, 19 de junio de 2026

DEDICATORIA

A mis padres, Mario Avilés y Blanca Vega, por su amor incondicional, su apoyo constante y por ser mi mayor ejemplo de superación, esfuerzo y constancia. Gracias por acompañarme en cada paso de mi carrera universitaria y por enseñarme que con dedicación y perseverancia todo sueño puede alcanzarse.

A mis hermanos, Anita y Rafael, por estar siempre presentes, por brindarme su apoyo en los momentos más difíciles y por motivarme a seguir adelante sin rendirme. Gracias por ser parte fundamental de este logro y por recordarme la importancia de luchar por mis sueños.

A mis tíos, Carlos, Silvia, Narcisa y Miguelina, quienes me han acompañado y apoyado desde el inicio de mi carrera, brindándome palabras de aliento, cariño y confianza durante este camino.

A Karina, por darme ánimos constantemente, por motivarme en los momentos de cansancio y por recordarme que siempre es posible continuar con amor y determinación.

A toda mi familia, por guiarme, apoyarme y acompañarme a lo largo de este camino universitario. Les dedico este triunfo con todo mi cariño, porque no es solo mío, sino también de cada persona que creyó en mí, me sostuvo en los momentos difíciles y me enseñó que siempre podemos crecer, mejorar y alcanzar nuestras metas.

AGRADECIMIENTO

Agradezco, en primer lugar, a Dios, por darme la fortaleza, la sabiduría y la perseverancia necesarias para alcanzar esta meta tan importante en mi vida.

A mis padres, por su amor incondicional, por su apoyo constante y por acompañarme en cada etapa de mi carrera universitaria. Gracias por creer en mí, por motivarme a seguir adelante y por enseñarme que con esfuerzo y dedicación los sueños se pueden cumplir.

A mi tutora, Mg. María Daniela Garcés, por su guía, paciencia, compromiso y apoyo durante la realización de este proyecto de investigación. Sus conocimientos y orientación fueron fundamentales para culminar este trabajo.

A mis amigos Juan, Mateo, Erick, Jeremy, Marco, Julio, Francisco, Angie, María José, Paula con quienes compartí momentos inolvidables durante toda la carrera universitaria. Gracias por su amistad, compañía, alegría y apoyo en este camino lleno de aprendizajes, retos y experiencias que siempre llevaré en mi corazón.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN EJECUTIVO	xvi
ABSTRACT.....	xvii
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1.Antecedentes Investigativos.....	1
1.1.1.Justificación del problema	1
1.1.2.Extractos vegetales con potencial antifúngico	2
1.1.2.1.Contexto actual del uso de extractos naturales frente a infecciones fúngicas	2
1.1.2.2. Riesgos de los hongos en salud, agricultura y seguridad alimentaria.....	2
1.1.2.3. Resistencia a los antifúngicos convencionales	3
1.1.2.4. Uso de los extractos de plantas aromáticas como alternativa sostenible	3
1.1.2.5. Relevancia de la canela y el clavo de olor en investigaciones.....	3

1.1.3. Fundamento fitoquímico de los extractos vegetales	5
1.1.3.1. Metabolitos secundarios presentes en plantas aromáticas	5
1.1.3.2. Composición química del extracto de canela (<i>Cinnamomum verum</i>)	6
1.1.3.3. Composición química del extracto de clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	6
1.1.4. Mecanismos de acción antifúngica de los extractos vegetales	6
1.1.4.1. Alteración de la membrana celular fúngica	6
1.1.4.2. Inhibición de enzimas relacionadas con la pared celular.....	7
1.1.4.3. Estrés oxidativo y alteraciones mitocondriales.....	7
1.1.4.4. Inhibición de la morfogénesis y virulencia fúngica.....	8
1.1.5. Tecnologías para la obtención y evaluación de extractos antifúngicos	8
1.1.5.1 Métodos de extracción de compuestos bioactivos.....	8
1.1.5.2. Extracción hidroalcohólica por maceración.....	8
1.1.5.3. Método de extracción Soxhlet	9
1.1.5.4. Factores que afectan el rendimiento y calidad del extracto	9
1.1.5.5. Técnicas de evaluación de la actividad antifúngica	9
1.1.6. Formulación de emulsiones y estabilidad de extractos antifúngicos	10
1.1.6.1. Emulsiones y nanoemulsiones como sistemas de liberación.....	10
1.1.6.2. Actividad antifúngica de canela y clavo Investigaciones sobre estabilidad de emulsiones con extractos.	10
1.2.Objetivos.....	12
1.2.1.Objetivo general.....	12

1.2.2.Objetivos específicos	12
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA	13
2.1.Materiales.....	13
2.1.1.Material vegetal	13
2.1.2.Material biológico.....	13
2.2.Métodos.....	16
2.2.1.Tipo de investigación.....	16
2.2.2.Muestra.....	16
2.2.3.Obtención de los extractos	16
2.2.3.1.Preparación de las muestras	16
2.2.3.2.Extracción hidroalcohólica	17
2.2.3.3.Extracción Soxhlet.....	17
2.2.3.4.Almacenamiento	18
2.2.4.Formar emulsiones con el uso de extractos con potencial antifúngico obtenidos de (<i>Cinnamomum verum</i>) y clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	18
2.2.4.1 Definir concentración.....	18
2.2.4.2. Emulsión y control de calidad.....	18
2.2.5.Establecer la concentración (CMI) y (CMF) de los extractos.	19
2.2.5.1 Dilución de los extractos.....	19
2.2.5.2. Activación de las cepas	19
2.2.5.3. Preparación del inóculo.....	19
2.2.5.4. Preparación de la micro dilución	19

2.2.5.5. Concentración Mínima Fungicida (CMF) y Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).	20
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
3.1. Análisis y discusión de los resultados	22
3.1.1. Obtención de extractos de canela (<i>Cinnamomum verum</i>) y clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>) mediante extracción Soxhlet y extracción hidroalcohólica.	22
3.1.1.1. Extracción hidroalcohólica	22
3.1.1.2. Extracción Soxhlet	24
3.1.2. Formulación de emulsiones con el uso de extractos con potencial antifúngico obtenidos de canela (<i>Cinnamomum verum</i>) y clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>).	26
3.1.2.1. Emulsión y control de calidad de los extractos Etanólico-Macerado	26
3.1.2.1.1. Características organolépticas de los extractos Etanólico-Macerado	26
3.1.2.1.2. Características fisicoquímicas de los extractos Etanólico-Macerado	28
3.1.2.2. Emulsión y control de calidad de los extractos Metanólicos	30
3.1.2.2.1. Propiedades organolépticas de las emulsiones de extractos por el método extracción Soxhlet	30
3.1.2.2.2. Propiedades fisicoquímicas de las emulsiones de extractos por el método extracción Soxhlet	33
3.1.3. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima antifúngica (CMF) de los extractos de canela (<i>Cinnamomum verum</i>) y clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>).	35
3.1.3.1. Concentración Mínima Fungicida (CMF) y Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).	35
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	39

4.1.Conclusiones.....	39
4.2.Recomendaciones	40
BIBLIOGRAFÍA	41
ANEXOS	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características morfológicas de canela y clavo de olor	4
Tabla 2. Listado de reactivos de laboratorio utilizados.....	13
Tabla 3. Resultados del rendimiento de la extracción hidroalcohólica de canela (<i>Cinnamomum verum</i>) y clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>).	22
Tabla 4. Resultados del rendimiento de la extracción Soxhlet de canela (<i>Cinnamomum verum</i>) y clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	24
Tabla 5. Propiedades organolépticas de las emulsiones de extractos por el método extracción hidroalcohólico	26
Tabla 6. Resultados de la emulsión de los extractos de clavo de olor y canela por el método extracción hidroalcohólico.....	28
Tabla 7. Propiedades organolépticas de las emulsiones de extractos por el método extracción Soxhlet.	30
Tabla 8. Resultados de la emulsión de los extractos de clavo de olor y canela por el método extracción Soxhlet.....	33
Tabla 9. Valores de la concentración mínima fúngica (CMF) para cepas de <i>C. albicans</i> , <i>Fusarium</i> sp. y <i>Aspergillus</i>	35
Tabla 10. Valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para cepas de <i>C. albicans</i> , <i>fusarium</i> sp. y <i>aspergillus</i>	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación gráfica de la distribución de las concentraciones de los extractos en la microplaca.....	20
Figura 2. Representación de la metodología para la evaluación antifúngica.....	21

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Resultados del rendimiento de la extracción hidroalcohólica y Soxhlet de canela (<i>Cinnamomum verum</i>) y clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>).....	48
Anexo 2. Concentraciones de los extractos por el método Soxhlet frente a <i>Candida albicans</i>	48
Anexo 3. Concentraciones de los estratos por el método Soxhlet frente a <i>Fusarium sp.</i>	49
Anexo 4. Concentraciones de los estratos por el método Soxhlet frente a <i>Aspergillus</i>	49
Anexo 5. Concentraciones de los estratos por el método Hidroalcohólico frente a <i>Candida albicans</i>	50
Anexo 6. Concentraciones de los estratos por el método Hidroalcohólico frente a <i>Fusarium sp.</i>	51
Anexo 7. Concentraciones de los estratos por el método Hidroalcohólico frente a <i>Aspergillus sp.</i>	51
Anexo 8. Proceso de extracción hidroalcohólica de las muestras de canela y clavo.....	52
Anexo 9. Proceso de extracción Soxhlet de las muestras de canela y clavo	53
Anexo 10. Emulsiones de los extractos hidroalcohólicos y Soxhlet	53
Anexo 11. Concentración mínima fúngica de los extractos de canela y clavo de olor.....	54
Anexo 12. Preparación de diluciones de los extractos etanólicos y metanólicos.	55
Anexo 13. Concentración mínima fúngica de los extractos	56

RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación resalta la importancia de emplear alternativas naturales, como los extractos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) en el control de hongos patógenos y filamentosos debido a su reconocido potencial antifúngico. Estos extractos contienen compuestos bioactivos como cinamaldehído y eugenol, que afectan la integridad de la membrana y la pared celular de los hongos, alterando procesos esenciales para su crecimiento y supervivencia, lo que los convierte en opciones sostenibles frente a antifúngicos sintéticos. Para evaluar su efectividad se obtuvieron extractos mediante métodos Soxhlet e hidroalcohólico, garantizando un adecuado rendimiento y preservación de los metabolitos activos. Posteriormente, se determinó la actividad antifúngica utilizando microplacas de noventa y seis pocillos, donde se visualizó la inhibición del crecimiento de *Candida albicans*, *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. a diferentes concentraciones, permitiendo establecer tanto la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) como la Concentración Mínima Fungicida (CMF) de manera precisa. Los resultados mostraron que los extractos concentrados lograron inhibir significativamente el crecimiento de los hongos evaluados, con variaciones dependientes de la especie y del método de extracción utilizado, evidenciando que tanto la composición química como la técnica de obtención influyen directamente en la actividad antifúngica.

Palabras claves: Extractos naturales; actividad antifúngica; canela; clavo de olor; concentración mínima inhibitoria; concentración mínima fungicida.

ABSTRACT

This research highlights the importance of using natural alternatives, such as cinnamon (*Cinnamomum verum*) and clove (*Syzygium aromaticum*) extracts, for the control of pathogenic and filamentous fungi due to their well-recognized antifungal potential. These extracts contain bioactive compounds, such as cinnamaldehyde and eugenol, which affect the integrity of fungal cell membranes and walls, disrupting essential processes for their growth and survival, making them sustainable options compared to synthetic antifungals. To evaluate their effectiveness, extracts were obtained using Soxhlet and hydroalcoholic methods, ensuring adequate yield and preservation of active metabolites. Subsequently, antifungal activity was assessed using ninety-six well microplates, where the inhibition of *Candida albicans*, *Fusarium* sp., and *Aspergillus* sp. growth was observed at different concentrations, allowing for the precise determination of both the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Fungicidal Concentration (MFC). The results demonstrated that the concentrated extracts significantly inhibited the growth of the evaluated fungi, with variations depending on the species and the extraction method used, evidencing that both chemical composition and extraction technique directly influence antifungal activity.

Keywords: Natural extracts; antifungal activity; cinnamon; clove; minimum inhibitory concentration; minimum fungicidal concentration.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

1.1.1. Justificación del problema

La seguridad alimentaria, la agricultura y la salud humana se ven afectadas por el aumento de las infecciones causadas por hongos patógenos. Los antifúngicos sintéticos tradicionales han perdido eficacia frente a cepas patógenas cada vez más resistentes (**Xu, 2022**). Ante esta problemática, surge la necesidad de buscar alternativas más eficientes, seguras y sostenibles, debido a que algunos antifúngicos actuales pueden generar efectos secundarios adversos y poner en riesgo el medio ambiente.

En este contexto, los extractos de plantas aromáticas representan una alternativa con gran potencial, debido a la presencia de componentes bioactivos con propiedades antifúngicas, antimicrobianas y metabólicas. Sin embargo, su uso a gran escala está limitado por la falta de estandarización, evaluación y formulación (**Nazzaro et al., 2017**). Por ello, a pesar de los resultados favorables obtenidos en condiciones de laboratorio, para su aplicación práctica a escala piloto e industrial aún falta establecer parámetros claros de actividad antifúngica y formulaciones estables basadas en estos extractos. Según **De Sousa et al. (2024)** y **Silva et al. (2017)**, los extractos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) presentan un alto contenido de eugenol, compuesto al que se le atribuye una elevada capacidad antifúngica frente a cepas de hongos patógenos, destacando su actividad contra especies de *Candida* sp. Además, los extractos de canela (*Cinnamomum verum*) contienen altos niveles de cinamaldehído, componente importante en la inhibición del crecimiento de hongos filamentosos como *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp. (**El Atki et al., 2019**; **Wisal et al., 2018**). A pesar de las investigaciones científicas realizadas hasta la fecha sobre el uso de estas matrices vegetales, aún existen variaciones en los valores reportados de Concentración Mínima Fungicida (CMF) y Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos. Estas diferencias pueden deberse a factores como el método de extracción, el solvente utilizado y la calidad de la materia prima (**Tariq et al., 2019**). Para superar estas inconsistencias, es necesario seguir protocolos estandarizados que permitan comparar los resultados de una manera segura y fiable.

Este proyecto parte de la necesidad de evaluar y determinar la CMI y la CMF de los extractos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum verum*) frente a cepas de *Candida* sp., *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp. Además, se formularon emulsiones para evaluar tanto sus propiedades organolépticas como su eficacia antifúngica. Con este trabajo se busca contribuir al desarrollo de alternativas naturales que permitan reducir la dependencia de los antifúngicos sintéticos, sentando una base científica para futuras aplicaciones en el ámbito de la salud, la agroindustria y la conservación de alimentos.

1.1.2. Extractos vegetales con potencial antifúngico

1.1.2.1.Contexto actual del uso de extractos naturales frente a infecciones fúngicas

Las infecciones por hongos representan una problemática creciente a nivel mundial, ya que ponen en riesgo la seguridad alimentaria y la salud humana. Los antifúngicos sintéticos se han visto limitados por la presencia de cepas cada vez más resistentes, lo que evidencia la necesidad de buscar alternativas seguras y amigables con el medio ambiente (Xu, 2022). Frente a esta problemática, surgen las matrices vegetales de canela y clavo de olor como fuentes naturales de compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas y antifúngicas (Nazzaro et al., 2017). En la actualidad, ha aumentado el interés por buscar soluciones frente a la resistencia a los antifúngicos mediante compuestos de origen natural, con el fin de combatir microorganismos patógenos que afectan la seguridad de la agricultura, la alimentación y la salud. Según Tariq et al. (2019), América Latina posee una amplia diversidad geográfica y biológica, lo que permite el desarrollo de bioproductos sostenibles con gran potencial en la industria de la salud y la agricultura. También se destaca la variedad de regiones que permiten el cultivo de matrices vegetales como la canela (*Cinnamomum verum*) y el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), las cuales han sido utilizadas tradicionalmente durante generaciones. Además, estas plantas poseen actividad antifúngica demostrada en investigaciones científicas.

1.1.2.2. Riesgos de los hongos en salud, agricultura y seguridad alimentaria

En la actualidad, los hongos representan un riesgo creciente para la salud humana, la agricultura y la seguridad alimentaria. Las infecciones causadas por hongos han sido subestimadas; sin embargo, son responsables de aproximadamente 1,5 millones de muertes, según la World Health Organization (2022). A nivel global, las infecciones fúngicas ponen en riesgo la salud de la población, especialmente en pacientes con el sistema inmunitario debilitado, entre ellos personas con VIH/sida, diabetes, desnutrición y cáncer. En el ámbito agrícola, los hongos filamentosos ocasionan pérdidas económicas millonarias y comprometen

la seguridad alimentaria de la población. Los cultivos que presentan mayores porcentajes de pérdidas a nivel mundial son el trigo con 21,5 %, arroz con 30,3 %, maíz con 22,6 %, papa con 17,2 % y soya con 21,4 % (Ristaino et al., 2021). Según Fisher et al. (2024), el 20 % del rendimiento agrícola total se ve afectado por la presencia de hongos fitopatógenos; además, estos generan aproximadamente un 10 % de pérdidas en postcosecha.

1.1.2.3. Resistencia a los antifúngicos convencionales

Las infecciones invasivas causadas por hongos se han convertido en una amenaza para la salud pública, debido a la creciente resistencia y adaptación a los antifúngicos sintéticos convencionales. La Organización Mundial de la Salud (OMS) destaca varias especies fúngicas de importancia clínica, como *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* y *Candida auris*. Estas especies son responsables de infecciones invasivas y fueron incluidas en la lista de patógenos fúngicos prioritarios por su alta resistencia y capacidad de propagación. Según la OMS (2022), se evidencia la necesidad de ampliar las investigaciones y desarrollar nuevos tratamientos para combatir los hongos patógenos. Una de las especies fúngicas más problemáticas para la salud humana es *Aspergillus fumigatus*, la cual ha desarrollado resistencia a los antifúngicos convencionales y posee la capacidad de infectar a humanos; por ello, representa un problema que debe abordarse desde el enfoque One Health (Fisher et al., 2022).

1.1.2.4. Uso de los extractos de plantas aromáticas como alternativa sostenible

Una de las alternativas sostenibles para el control de hongos filamentosos y patógenos es el uso de extractos naturales obtenidos a partir de matrices vegetales aromáticas, como la canela (*Cinnamomum verum*) y el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), especies que presentan menor riesgo ambiental, son biodegradables y tienen origen natural (Singh et al., 2021). Los extractos naturales presentan menor riesgo para la salud humana; además, poseen actividad biológica y antifúngica, lo que facilita su aplicación frente a hongos patógenos (Leiva-Mora et al., 2025). La FAO ha publicado diversos documentos sobre el uso de agentes botánicos, bioplaguicidas y productos medicinales, lo que resalta el interés creciente en el empleo de productos naturales para el tratamiento de enfermedades y el control de plagas (Food and Agriculture Organization [FAO], 2024).

1.1.2.5. Relevancia de la canela y el clavo de olor en investigaciones

La canela (*Cinnamomum verum*) y el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) han adquirido una importancia creciente dentro de las investigaciones microbiológicas,

micológicas, farmacológicas y agroindustriales, debido a su composición rica en compuestos bioactivos y metabolitos secundarios con actividad biológica (Nazzaro et al., 2017). Ambas matrices vegetales se caracterizan por contener compuestos fenólicos y aceites esenciales, lo que las convierte en alternativas naturales de interés frente al uso de agentes antimicrobianos sintéticos. En el caso de la canela, se ha reportado que sus principales compuestos bioactivos incluyen cinamaldehído, eugenol, acetato de cinamilo, ácido cinámico y β -cariofileno, los cuales se han vinculado con diversas actividades farmacológicas y antimicrobianas (Singh et al., 2021). Por su parte, el clavo de olor destaca por su alto contenido de eugenol, compuesto fenólico que ha sido relacionado con efectos antimicrobianos y antifúngicos (Šernaitė et al., 2020). Diversos estudios comparativos han demostrado que el clavo de olor y la canela presentan actividad frente a hongos y bacterias, lo que refuerza su utilidad como fuentes de compuestos bioactivos aplicables en el control microbiano.

Tabla 1

Características morfológicas de canela y clavo de olor.

Características	Especies vegetales	
	Canela	Clavo de olor
Nombre científico	<i>Cinnamomum verum</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>
Tamaño	Árbol perenne que puede alcanzar entre 10 y 15 m de altura en condiciones naturales.	Árbol perenne de crecimiento lento que puede alcanzar aproximadamente 8 a 12 m de altura.
Hojas	Hojas simples, opuestas o subopuestas, color verde brillante, aromáticas y con nervaduras marcadas.	Hojas simples, opuestas, lanceoladas, brillantes, de color verde oscuro y con aroma característico

Flores	Flores pequeñas, de color blanco amarillento o verdoso	Flores pequeñas agrupadas en racimos terminales; los botones florales son de color rosado.
Tallos	Tallo leñoso con corteza aromática; la corteza interna es la parte más utilizada como especia.	Tallo leñoso, ramificado y aromático
Frutos	Fruto tipo baya pequeña, de color oscuro o negro al madurar.	Fruto tipo baya alargada, rojiza a púrpura al madurar

Imagen



Nota. La presenta tabla compara las principales características fisiológicas de las especies.

Adaptado de: (Ravindran, 2004).

La relevancia de estas dos especies también se relaciona con su posible aplicación en el control de hongos fitopatógenos y contaminantes alimentarios. Hongos como *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. y *Candida* sp. representan un problema importante debido a su capacidad de afectar cultivos, alimentos almacenados y en algunos casos, la salud humana.

1.1.3 Fundamento fitoquímico de los extractos vegetales

1.1.3.1. Metabolitos secundarios presentes en plantas aromáticas

Las plantas aromáticas, como la canela y el clavo de olor, presentan en su composición metabolitos secundarios, fenoles, terpenos y diversos compuestos bioactivos que pueden ser

recuperados mediante procesos de extracción. Según **Bakkali et al. (2008)**, los extractos de plantas son mezclas complejas de diversos compuestos que les confieren propiedades y características biológicas, como el aroma y la actividad antimicrobiana. Entre estas matrices vegetales se destacan la canela (*Cinnamomum verum*) y el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), debido a la presencia de compuestos bioactivos con efectos antimicrobianos, antifúngicos, antioxidantes y terapéuticos (**Bibow et al., 2024**).

1.1.3.2. Composición química del extracto de canela (*Cinnamomum verum*)

El extracto de canela (*Cinnamomum verum*) contiene diferentes componentes bioactivos, entre los que se destaca el cinamaldehído por su actividad antifúngica. Este compuesto puede encontrarse en la corteza de canela en una proporción aproximada entre el 65 % y el 85 % de su composición total (**El Atki et al., 2019**). Entre otros componentes importantes se destacan el acetato de cinamilo, el linalool y el β -cariofileno, compuestos asociados con una importante actividad biológica. Según **Wisal (2018)**, los componentes bioactivos y metabolitos secundarios pueden variar en su composición dependiendo de la especie vegetal y de las condiciones de cultivo de la canela. Además, el método de extracción, el solvente utilizado y la temperatura pueden afectar los metabolitos que se recuperan durante el proceso.

1.1.3.3. Composición química del extracto de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*)

El extracto de canela (*Cinnamomum verum*) contiene diversos componentes bioactivos, entre los que sobresale el cinamaldehído por su actividad antifúngica. Este compuesto puede encontrarse en la corteza de canela en una proporción aproximada de entre el 65 % y el 85 % de su composición total (**El Atki et al., 2019**). Asimismo, se han identificado otros componentes importantes, como el acetato de cinamilo, el linalool y el β -cariofileno, compuestos asociados con una importante actividad biológica. Según **Wisal (2018)**, la composición de los metabolitos secundarios puede variar dependiendo de la especie vegetal y de las condiciones de cultivo de la canela.

1.1.4. Mecanismos de acción antifúngica de los extractos vegetales

1.1.4.1. Alteración de la membrana celular fúngica

El principal mecanismo de acción antifúngica asociado con el uso de extractos de plantas aromáticas es la alteración de la membrana plasmática. Esta estructura celular cumple funciones vitales para la célula fúngica, ya que se encarga del transporte de nutrientes, del

equilibrio osmótico y de la participación en procesos metabólicos relacionados con el crecimiento **(Mani-López et al., 2021)**. Muchos compuestos presentes en los aceites esenciales y extractos vegetales son lipofílicos, por lo que pueden insertarse en la bicapa lipídica y modificar su permeabilidad y estabilidad funcional. En los hongos, el ergosterol es un componente fundamental de la membrana plasmática; por ello, su reducción o alteración puede afectar directamente la integridad de la membrana y provocar daño celular **(Nazzaro et al., 2017)**. En el caso del eugenol, principal compuesto bioactivo del clavo de olor se ha reportado que puede unirse a la membrana celular de *Candida* sp., disminuir la biosíntesis de ergosterol y generar daño tanto en la membrana como en la pared celular. Asimismo, el cinamaldehído, compuesto característico de la canela, ha mostrado efectos sobre hongos fitopatógenos **(Didehdar et al., 2022)**. En diversos estudios se ha observado que el tratamiento con cinamaldehído provoca cambios morfológicos evidentes en la pared y membrana celular, lo que demuestra su capacidad para inhibir el crecimiento y comprometer la supervivencia fúngica.

1.1.4.2. Inhibición de enzimas relacionadas con la pared celular

La pared celular fúngica es una estructura rígida y dinámica compuesta principalmente por quitina, β -glucanos, proteínas y lípidos **(Mani-López et al., 2021)**. Esta pared protege a la célula, mantiene su forma y contribuye a su estabilidad estructural. Las enzimas relacionadas con la síntesis de quitina y β -1,3-glucano son esenciales para la formación y el mantenimiento de la pared fúngica **(Curto et al., 2021)**. Algunos productos naturales han sido estudiados por su capacidad para interferir con el glucano sintasa y la quitina sintasa, enzimas involucradas en la síntesis de los principales polisacáridos estructurales de la pared celular. En el caso de los aceites esenciales y extractos vegetales, la alteración de la pared celular puede evidenciarse mediante cambios morfológicos observados por microscopía, liberación de enzimas o modificaciones en la expresión de genes asociados con la pared celular. En compuestos como el eugenol, se ha reportado daño sobre la pared celular de *Candida albicans*, asociado con la reducción de ergosterol y alteraciones estructurales observadas por microscopía **(Didehdar et al., 2022)**.

1.1.4.3. Estrés oxidativo y alteraciones mitocondriales

Los extractos vegetales pueden inducir estrés oxidativo. Este proceso ocurre cuando aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno, conocidas como ROS, y la célula no logra neutralizarlas mediante sus sistemas antioxidantes **(Yaakoub et al., 2022)**. En los hongos,

el exceso de ROS puede dañar lípidos, proteínas y ADN, lo que genera alteraciones metabólicas que pueden conducir a la muerte celular. Las mitocondrias constituyen uno de los principales blancos de este proceso antifúngico, ya que participan en la producción de energía mediante la generación de ATP (**Mani-López et al. 2021**). Algunos componentes de los aceites esenciales pueden atravesar la pared celular y la membrana plasmática, afectando bombas de protones, reduciendo las reservas de ATP, modificando la permeabilidad mitocondrial y desencadenando procesos de muerte celular por apoptosis o necrosis.

1.1.4.4. Inhibición de la morfogénesis y virulencia fúngica

La morfogénesis fúngica se refiere a la capacidad de ciertos hongos para cambiar de forma durante su desarrollo. Los aceites esenciales de canela y clavo de olor han demostrado capacidad para inhibir factores de virulencia en *Candida albicans* (**Shahina et al., 2022**). Los aceites de canela y clavo, tanto de manera individual como en combinación, pueden afectar la virulencia de hongos patógenos al inhibir estructuras relacionadas con el crecimiento hifal y micelial. El eugenol también ha sido asociado con la reducción de la formación de tubos germinales y la adhesión celular. Estos procesos son clave para la colonización y supervivencia del hongo, especialmente en superficies biológicas y materiales médicos. En el caso de la canela, compuestos como el cinamaldehído también han sido relacionados con la reducción de factores de virulencia, incluyendo la formación de tubos germinales, la adhesión celular y la actividad de enzimas extracelulares, como las fosfolipasas (**D'Agostino et al., 2019**).

1.1.5. Tecnologías para la obtención y evaluación de extractos antifúngicos

1.15.1 Métodos de extracción de compuestos bioactivos

La extracción de metabolitos a partir de especies vegetales constituye una etapa crítica para la obtención de extractos con potencial antifúngico. En especies como la canela (*Cinnamomum verum.*) y el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), se han identificado compuestos fenólicos y volátiles responsables de diversas actividades biológicas (**El Atki, 2019**). La eficiencia de la recuperación de extractos depende del método de extracción, la temperatura y la polaridad del solvente (**Azmir et al., 2013**). Además, esto está directamente relacionado con la calidad del extracto obtenido.

1.1.5.2. Extracción hidroalcohólica por maceración

La extracción hidroalcohólica por maceración se fundamenta en el uso de mezclas de solventes y agua, con polaridad media que permita la solubilización eficiente de compuestos polares y semipolares, como flavonoides y fenólicos presentes en plantas (Azwanida, 2015). Esta técnica debe realizarse a temperatura ambiente, lo que reduce la degradación de metabolitos termosensibles y volátiles.

1.1.5.3. Método de extracción Soxhlet

La extracción Soxhlet es una técnica convencional que opera mediante la recirculación continua de solvente caliente, favoreciendo una extracción más exhaustiva de compuestos menos polares presentes en las especies vegetal (Montiel et al., 2023). Aunque el uso prolongado de temperaturas elevadas puede generar degradación de compuestos y metabolitos sensibles, su aplicación y rendimiento permite optimizar el aprovechamiento del residuo vegetal permitiendo recuperar extractos más complejos.

1.1.5.4. Factores que afectan el rendimiento y calidad del extracto

Uno de los principales problemas identificados en la revisión de la literatura es que no existe una metodología completamente estandarizada para evaluar la actividad antifúngica. Los valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Fungicida (CMF) reportados para los mismos extractos vegetales presentan una amplia variabilidad, incluso cuando se evalúan frente a cepas similares (Tariq et al., 2019). Estas inconsistencias se deben a varios factores que dificultan la comparación de resultados entre estudios. Por un lado, los métodos de extracción utilizados son distintos; además, la pureza y el origen de los extractos no siempre son los mismos. Las técnicas de evaluación tampoco son uniformes, ya que algunos investigadores emplean difusión en agar, mientras que otros prefieren la microdilución en caldo (Shahina et al., 2022).

1.1.5.5. Técnicas de evaluación de la actividad antifúngica

La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para hongos filamentosos patógenos y levaduras se realiza en microplacas de 96 pocillos, debido a la limitada difusión de algunos extractos de matrices vegetales, como la canela y el clavo de olor, en medios sólidos (Long et al., 2024). La resazurina es un indicador metabólico utilizado para identificar la presencia o ausencia de crecimiento microbiano, incluido el fúngico. Este indicador funciona mediante un cambio de color de azul a rosado o rojo. El método permite

determinar el crecimiento de forma rápida, ya que la resazurina permanece azul cuando no existe actividad metabólica y cambia a rosado cuando hay actividad metabólica, lo que indica crecimiento microbiano (**Hong et al., 2023**). Además, este método es sensible para evaluar la actividad fúngica frente a diversas sustancias complejas, como medios de cultivo y extractos con actividad bioactiva.

1.1.6. Formulación de emulsiones y estabilidad de extractos antifúngicos

1.1.6.1. Emulsiones y nanoemulsiones como sistemas de liberación

Los extractos de plantas aromáticas tienen diferentes características bioactivas en las que se destacan antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas, para mejorar la aplicación de estos extractos se utiliza las emulsiones y las nanoemulsiones generalmente aceite en agua que ayuda a aumentar la eficiencia y estabilidad. Las nanoemulsiones reducen la volatilización de compuestos y la coalescencia, debido al tamaño de la gota es menor a 200 nanómetros en la emulsión. Esto permite la mejor liberación e interacción con las membranas fúngicas potenciado la actividad bioactiva de los extractos. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que la estabilidad de las emulsiones dependerá del tensoactivo y la formulación de esta. Según **Flekka et al. (2024)**, una buena emulsión se puede conservar alrededor de 60 días sin perder propiedades bioactivas y fúngicas en refrigeración.

1.1.6.2. Actividad antifúngica de canela y clavo Investigaciones sobre estabilidad de emulsiones con extractos.

Los hongos filamentosos, como *Penicillium expansum*, pueden ser inhibidos con una efectividad del 80 % al 90 % mediante compuestos como el cinamaldehído, obtenido del extracto de canela (**Long et al., 2024**). Según diversas investigaciones, esto se debe a que esta matriz vegetal posee una importante actividad bioactiva. Para **Valková et al. (2022)**, dicha actividad está relacionada con la capacidad de los compuestos bioactivos para permeabilizar la pared celular e inhibir reacciones metabólicas vitales. Además, se debe tener en cuenta que el método de extracción, la temperatura, el tiempo y la matriz vegetal pueden afectar las propiedades antifúngicas y disminuir su efectividad.

El clavo de olor presenta un alto contenido de eugenol, compuesto con características antifúngicas útiles frente a cepas clínicas de interés. Además, se ha determinado que los valores de CMI son de 0,25 y 0,2 mg/mL en ensayos realizados en placas de 96 pocillos con resazurina. El eugenol es un compuesto volátil, por lo que resulta importante incorporarlo en una emulsión

para evitar su evaporación rápida. Este compuesto afecta la membrana celular, dificultando reacciones enzimáticas y metabólicas (**Hong et al., 2023**). Las emulsiones a partir de extractos naturales, como canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), son de vital importancia para la creación de productos antifúngicos. Según **Flekka et al. (2024)**, las emulsiones con potencial zeta alto mejoran la estabilidad y la vida útil de las mismas, lo que permite una mayor actividad antimicrobiana sobre la superficie de contacto.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

- Evaluar de la actividad antifúngica de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) frente a cepas de *Candida* sp., *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp.

1.2.2. Objetivos específicos

- Obtener extractos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) mediante extracción hidroalcohólica y Soxhlet.
- Formular emulsiones con el uso de extractos con potencial antifúngico obtenidos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).
- Establecer la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima antifúngica (CMF) de los extractos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1. Materiales

El presente trabajo de titulación fue de tipo experimental y se realizó en los laboratorios académicos 2.2, 2.3 y laboratorios de la Unidad Operativa de la Dirección de Investigación y Desarrollo (UODIDE) de la Universidad Técnica de Ambato.

2.1.1. Material vegetal

Las matrices empleadas para el estudio son:

- Canela (*Cinnamomum verum*)
- Clavo de olor (*Syzygium aromaticum*)

2.1.2. Material biológico

Las cepas fúngicas empleadas para la evaluación de la actividad antifúngica son:

- *Candida albicans*
- *Aspergillus* sp.
- *Fusarium* sp.

La **Tabla 2** detalla los reactivos, equipos, materiales e insumos empleados para el desarrollo del proyecto.

Tabla 2

Listado de reactivos de laboratorio utilizados

Reactivos de laboratorio	Cantidad
Medio de cultivo PDA	100 g
Agua de peptona	20 g
Etanol al 96%	1 L
Metanol al 99%	1 L
Solución salina	1L
Agua destilada	5 L

Hipoclorito de sodio (3-5%)	500 mL
Resazurina (0.02%)	0.05 g
Tween 80	20 mL
Propilenglicol	20 mL
Agua desionizada	1L
Clotrimazol	25 mL
Equipos de laboratorio	Cantidad
Cámara de flujo laminar	1
Incubadora	1
Refrigeradora	1
Autoclave	1
Espectrofotómetro	1
Extractor Soxhlet	2
Balanza analítica	1
Vórtex	1
Rotavapor	1
Plancha de calentamiento	1
Plancha de agitación	1
Estufa de secado (40 °C)	1
Mechero de Bunsen	1
Instrumentos de laboratorio	Cantidad
Pipeta volumétrica (1 mL)	1
Embudos de vidrio	2

Balones de aforo (10, 50, 100 mL)	3
Piseta	1
Cajas Petri	20
Tubos de ensayo con tapa rosca	50
Frascos ámbar (50 mL)	10
Tubos Eppendorf	45
Vasos de precipitación (50, 100 mL)	4
Micropipetas (20-200 μ L, 100-1000 μ L)	3
Puntas estériles para micropipeta	200 u
Película adhesiva (Parafilm®)	1
Asa de Drigalski	1
Placas de micro titulación (96 pocillos)	6
Gradillas	2
Papel filtro	1
Espátula	1
Pinzas	1
Matraces Erlenmeyer (100, 250 mL)	4
Mortero o licuadora	1
Fundas plásticas sellables	1
Perlas de ebullición	10

Cámara de Neubauer	1
Insumos	Cantidad
Mandil	1
Guantes	1 caja
Cepillo de lavar equipos	2
Papel aluminio	2
Fósforos	1
Marcadores	2
Cuaderno de apuntes	1

Nota. Autoria propia.

2.2.Métodos

2.2.1. Tipo de investigación

La presente investigación fue de carácter cualitativo y cuantitativo, puesto que se analizaron rendimientos, propiedades organolépticas, determinación de concentraciones y de forma visual crecimiento fúngico de *Candida albicans*, *aspergillus* sp.y *fusarium* sp.

2.2.2. Muestra

Las muestras de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) se obtuvieron de manera comercial.

2.2.3. Obtención de los extractos

2.2.3.1. Preparación de las muestras

Las muestras obtenidas de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 3 %-5 % y se enjuagaron de dos a tres veces con agua estéril. Posteriormente, se colocaron en crisoles dentro de una estufa de vacío a 40 °C durante 24 horas, hasta alcanzar el secado de las muestras (Arienzo et al., 2023). El material vegetal seco se trituró con un procesador de alimentos hasta obtener un polvo fino y sin grumos; finalmente, se empacó en fundas plásticas para su conservación.

2.2.3.2. Extracción hidroalcohólica

La obtención de extractos hidroalcohólicos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) se realizó mediante el método de maceración, con el propósito de extraer compuestos bioactivos polares y semipolares presentes en las matrices vegetales (Azwanida, 2015). Este procedimiento permitió preservar los compuestos termosensibles, debido a que se desarrolló a temperatura ambiente, evitando la degradación de compuestos volátiles como el cinamaldehído y el eugenol.

Para este proceso, se pesaron 50 g del polvo obtenido de cada muestra de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). Posteriormente, cada muestra se mezcló con 200–300 mL de etanol al 70 % en vasos de precipitado. Las mezclas se dejaron reposar a temperatura ambiente durante 72 horas, cubiertas con papel aluminio y en ausencia de luz. Luego, los extractos se filtraron por separado con papel filtro en matraces Erlenmeyer. Con ayuda de un rotavapor, se evaporó el etanol a una temperatura de 68 °C y 240–260 rpm durante 30 min, hasta recuperar el solvente (Hemmati et al., 2015). Finalmente, los extractos obtenidos se almacenaron en frascos ámbar bajo refrigeración.

2.2.3.3. Extracción Soxhlet

La extracción de los compuestos presentes en canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) se realizó mediante el método Soxhlet, técnica que permitió la extracción de metabolitos mediante la recirculación constante del solvente caliente (Azwanida, 2015). El solvente empleado para estas matrices vegetales fue el metanol, debido a su capacidad para extraer una mayor cantidad de metabolitos secundarios presentes en las especias.

Para ello, se elaboraron cartuchos con papel filtro y se depositaron 25 g de las especias en polvo: canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). Posteriormente, los cartuchos se sellaron con grapas para evitar derrames dentro del equipo. Luego, se armó el equipo Soxhlet, colocando el cartucho en el tubo extractor. En el balón inferior se colocaron 300 mL de metanol puro junto con perlas de ebullición (Azwanida, 2015). Después, se calentó el sistema con una plancha de calentamiento y se aseguró el flujo constante de agua en el condensador. El proceso duró aproximadamente de 6 a 8 horas y se realizaron entre 10 y 15 ciclos de sifoneo, hasta observar que el solvente salía transparente. Estos ciclos garantizaron una extracción más completa de los metabolitos que no se recuperaron mediante

el método de maceración (Azmir et al., 2013). Posteriormente, el metanol se evaporó en rotavapor a 64 °C y 240 rpm durante 30 min, hasta recuperar el solvente y separar el extracto.

La aplicación de ambos métodos se justificó porque la maceración hidroalcohólica permitió conservar compuestos termosensibles y polares (Hemmati et al., 2015), mientras que el método Soxhlet permitió una extracción más exhaustiva de metabolitos menos polares, lo que contribuyó a optimizar el rendimiento global de los extractos.

2.2.3.4. Almacenamiento

Los extractos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) se colocaron en frascos de color ámbar y se rotularon según la matriz vegetal y el método de extracción utilizado. Posteriormente, se almacenaron en refrigeración a 4 °C para su conservación.

2.2.4. Formar emulsiones con el uso de extractos con potencial antifúngico obtenidos de (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).

2.2.4.1 Definir concentración

Se prepararon emulsiones stock de canela (*Cinnamomum verum*) a 100 µL/mL, clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) a 100 µL/mL y una emulsión mixta de canela y clavo de olor a 100 µL/mL. Para la preparación de cada emulsión, se emplearon 43 mL de agua destilada, 2 mL de Tween 80 y 5 mL de extracto. Primero, se midió el agua destilada en una probeta y se colocó en un vaso de precipitado de 100 mL. Posteriormente, se añadieron 2 mL de Tween 80 y se encendió el homogeneizador de alta velocidad a 1200 rpm durante 3 min, con el fin de mezclar el emulsionante con el agua destilada. Una vez integradas ambas soluciones, se procedió a añadir lentamente 5 mL del extracto en el vaso de precipitado con ayuda de una micropipeta. Luego, se aumentó la velocidad de homogenización durante 5 min, hasta formar una emulsión estable (Zhang et al., 2017). Este procedimiento se realizó para el extracto de canela (*Cinnamomum verum*), el extracto de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y la mezcla de ambos extractos.

2.2.4.2. Emulsión y control de calidad

Una vez preparadas las emulsiones, se realizaron pruebas organolépticas de calidad, como color, olor y aspecto general de la emulsión. También se realizaron pruebas fisicoquímicas, que incluyeron la medición del pH y la determinación de sólidos totales para cada una de las emulsiones.

2.2.5. Establecer la concentración (CMI) y (CMF) de los extractos.

2.2.5.1 Dilución de los extractos

En tubos Eppendorf esterilizados, se colocaron las emulsiones de los extractos descritas en el apartado 2.2.4.1 y se realizaron diluciones a diferentes concentraciones. Se utilizó agua de peptona como diluyente y se empleó un vórtex para la homogeneización de las muestras. Todo el proceso se realizó con materiales estériles y dentro de una cabina de flujo laminar, con el fin de evitar contaminación durante la preparación. Las concentraciones preparadas fueron de 100, 80, 60, 40 y 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

2.2.5.2. Activación de las cepas

La activación de las cepas de *Candida* sp., *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp. se realizó en medio PDA, en el cual se colocó un fragmento pequeño de micelio de aproximadamente 3–5 mm con ayuda de un asa o una pinza estéril. Las cajas Petri sembradas se incubaron durante 5 días a 25 °C.

2.2.5.3. Preparación del inóculo

Se realizó el conteo de conidios de cada cepa fúngica utilizando la cámara de Neubauer, con el fin de verificar una concentración promedio del inóculo de 1×10^5 a 1×10^6 conidios/mL, según las metodologías establecidas por CLSI M38 y EUCAST. Cuando la concentración de conidios fue demasiado elevada para el conteo, se procedió a realizar diluciones hasta obtener un inóculo promedio adecuado para el ensayo.

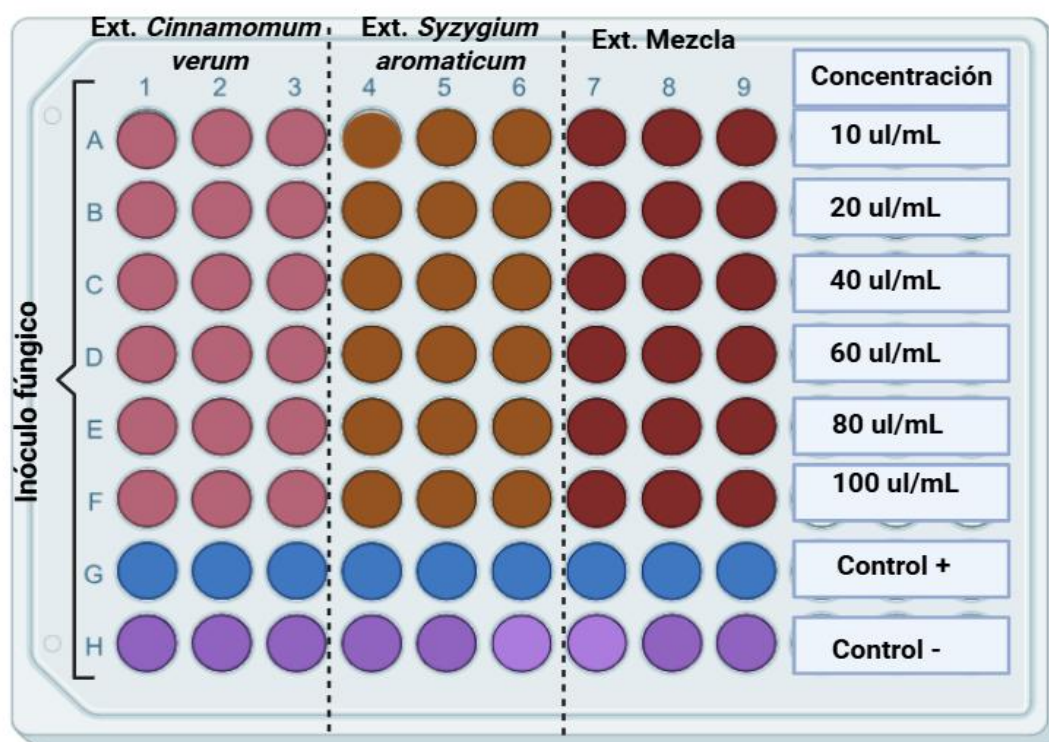
2.2.5.4. Preparación de la micro dilución

Se utilizó una placa de microtitulación de 96 pocillos, en la cual se depositaron 100 μL de las diluciones previamente preparadas junto con 100 μL del inóculo estandarizado, con ayuda de una micropipeta. Además, se empleó agua de peptona como control negativo y clotrimazol como control positivo. Posteriormente, las placas se taparon e incubaron a 25 °C durante 24 horas. Este proceso se realizó por triplicado para cada hongo evaluado. Después de las 24 horas de incubación, se verificó la viabilidad celular mediante resazurina, colocando 20 μL de la solución al 0,02 % en cada pocillo. Luego, las placas se incubaron durante 2 horas. Transcurrido este tiempo, se observó el cambio de color en los pocillos y se identificó la presencia o ausencia de crecimiento fúngico.

La **figura 1** representa como se realizó la distribución de las diluciones a diferentes concentraciones del clavo de olor, canela y mezcla, para la evaluación antifúngica de las diferentes cepas.

Figura 1

Representación gráfica de la distribución de las concentraciones de los extractos en la microplaca.



Nota. Autoría propia

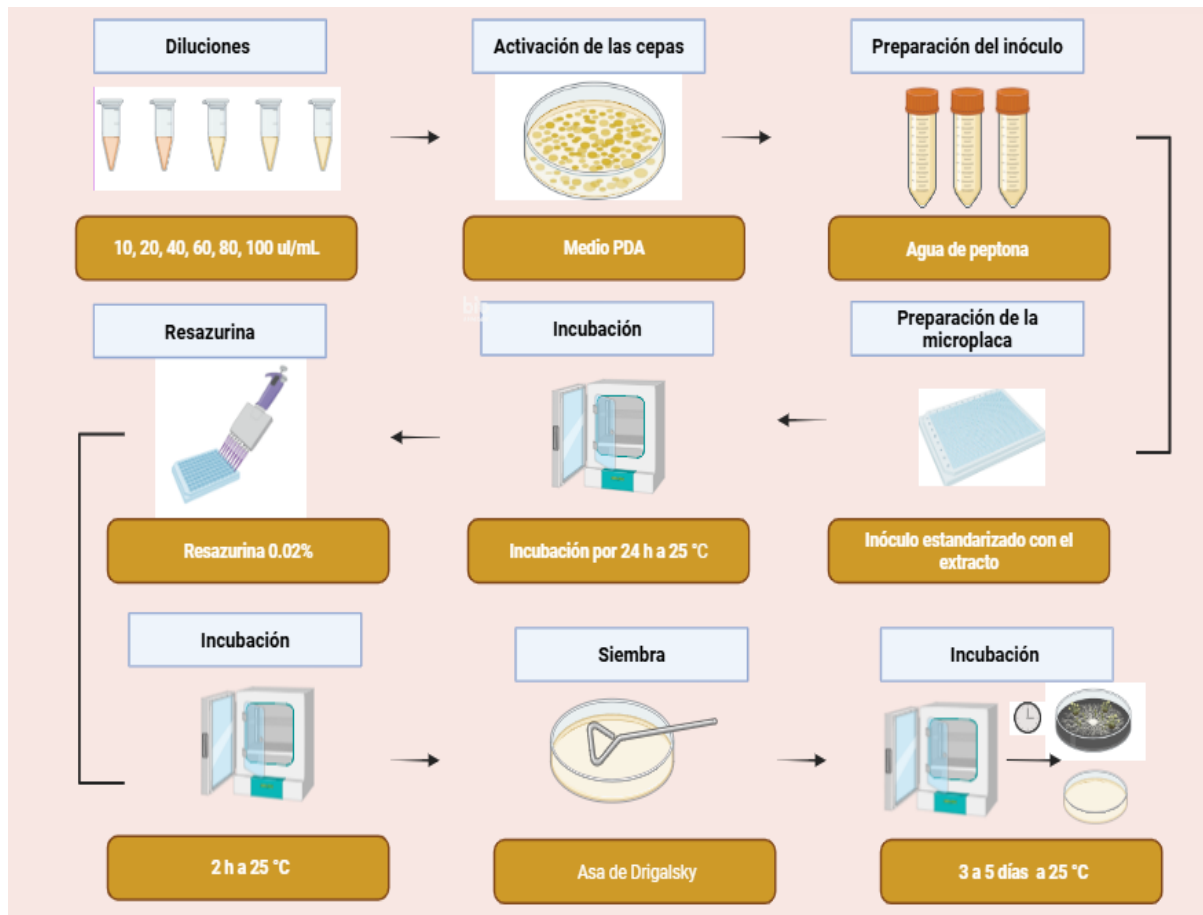
2.2.5.5. Concentración Mínima Fungicida (CMF) y Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

Se prepararon cajas Petri con medio PDA correctamente rotuladas y se verificaron los pocillos que no presentaron turbidez o que evidenciaron disminución del crecimiento en relación con las concentraciones evaluadas para la CMI, con el fin de realizar la siembra en placas. Posteriormente, se colocaron 100 μ L de la muestra en cada placa y se realizó una siembra por extensión. Las placas se incubaron a 25 °C durante 3 a 5 días. Transcurrido este

tiempo, se identificaron las placas sin crecimiento visible y se determinó el valor de la concentración mínima fungicida (CMF) (Arendrup et al., 2015).

Figura 2

Representación de la metodología para la evaluación antifúngica.



Nota. Autoría propia

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

El desarrollo de esta investigación permitió determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) de extractos naturales de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) frente a cepas de *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. y *Candida albicans*. Además, se identificó el método de extracción más eficiente para la obtención de extractos a partir de estas matrices vegetales. Esta investigación contribuye a la búsqueda de alternativas naturales para el control de hongos, con el fin de reducir la dependencia del uso de antifúngicos sintéticos. En este contexto, los extractos obtenidos de plantas aromáticas representan una opción ideal, debido a su potencial antifúngico.

3.1.1. Obtención de extractos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) mediante extracción Soxhlet y extracción hidroalcohólica.

3.1.1.1. Extracción hidroalcohólica

En la Tabla 3 se presentan los rendimientos obtenidos mediante extracción hidroalcohólica de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum verum*). El método de extracción hidroalcohólica por maceración consiste en la obtención de compuestos bioactivos y metabolitos secundarios mediante el uso de un solvente. El solvente más empleado para este método es el etanol al 70 %, el cual se mezcla con agua para mejorar el rendimiento de extracción. Este proceso tiene una duración de 72 horas, tiempo durante el cual el solvente penetra en la matriz vegetal y disuelve compuestos como fenoles, taninos, flavonoides, eugenol y cinamaldehído.

Tabla 3

Resultados del rendimiento de la extracción hidroalcohólica de canela (Cinnamomum verum) y clavo de olor (Syzygium aromaticum).

Especie	Método de extracción	R1 %	R2 %	R3%	Media (+/-)
Clavo de olor	Hidroalcohólica	27,19	27,34	27,49	27,34 ± 0,15

Canela	Hidroalcohólica	24,95	25,40	25,85	25,40 ± 0,45
--------	-----------------	-------	-------	-------	--------------

Nota. Autoría propia

Como se observa en la **Tabla 3**, el rendimiento obtenido mediante el método hidroalcohólico para el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) fue de $27,34 \pm 0,15$ %, mientras que el rendimiento de la canela (*Cinnamomum verum*) fue de $25,40 \pm 0,45$ %. Estos valores indican una diferencia de 1,94 % entre las matrices vegetales evaluadas. Esto sugiere que el rendimiento de extracción del clavo de olor fue mayor que el de la canela.

La comparación de los resultados mostró que los rendimientos fueron mayores en el clavo de olor, lo cual puede deberse a su composición, debido a que esta matriz presenta una elevada concentración de compuestos fenólicos, metabolitos secundarios y sustancias bioactivas como el eugenol, los cuales pueden ser extraídos con solventes hidroalcohólicos, como el etanol (**Afrendi et al., 2023**). Además, este comportamiento concuerda con lo reportado por **Frohlich et al. (2022)**, quienes evaluaron la extracción de *Syzygium aromaticum* y demostraron que variables como el tiempo, la temperatura y el tipo de solvente afectan directamente el rendimiento. En dicho estudio, la extracción alcanzó un rendimiento de 14,63 %. Aunque el rendimiento reportado por estos autores fue menor al obtenido en la presente investigación, esta diferencia puede explicarse por el tipo de material vegetal utilizado, ya que ellos trabajaron con hojas, mientras que en la presente investigación se emplearon botones florales de clavo de olor, los cuales presentan una alta concentración de metabolitos aromáticos y fenólicos.

El rendimiento de la extracción hidroalcohólica de canela (*Cinnamomum verum*) fue superior al reportado por **Eidi et al. (2012)**, quienes indicaron un rendimiento de 17,7 % en la extracción de extractos etanólicos. Esta diferencia puede estar asociada con las condiciones de extracción, el porcentaje de etanol, el tamaño de partícula, el tiempo de maceración y la calidad del material vegetal. Además, **Yang et al. (2012)** reportaron que el rendimiento de canela por extracción alcohólica depende de la parte vegetal empleada, destacando valores de 6,85 % en brotes, 12,73 % en corteza y 23,02 % en hojas. Esto demuestra que el rendimiento no depende únicamente del solvente, sino también de la estructura anatómica y de la composición de la matriz vegetal.

El rendimiento del clavo de olor fue mayor que el de la canela en la presente investigación; sin embargo, esta diferencia no necesariamente significa que el extracto de clavo tenga mayor actividad antifúngica o biológica. El rendimiento representa únicamente la cantidad de extracto recuperado. Por ello, un extracto con menor rendimiento podría presentar mayor actividad si posee una mayor proporción de metabolitos activos. Por otra parte, estudios como el de **Temesgen et al. (2022)** señalan que el tipo de solvente influye en la extracción de polifenoles y flavonoides de *Syzygium aromaticum*, compuestos estrechamente relacionados con su capacidad antioxidante y antimicrobiana.

3.1.1.2. Extracción Soxhlet

En la **Tabla 4** se presentan los rendimientos obtenidos mediante extracción Soxhlet de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y canela (*Cinnamomum verum*). El método Soxhlet es una técnica de extracción continua, la cual utiliza un solvente caliente, en este caso metanol, para favorecer la extracción de compuestos bioactivos como el eugenol y el cinamaldehído. Este método favorece la disolución de los compuestos de interés, lo que permite una recuperación eficiente de los metabolitos presentes en la matriz vegetal.

Tabla 4

Resultados del rendimiento de la extracción Soxhlet de canela (Cinnamomum verum) y clavo de olor (Syzygium aromaticum).

Especie	Método de extracción	R1 %	R2 %	R3%	Media (+/-)
Clavo de olor	Soxhlet	31,74	32,34	32,94	32,34 ± 0,60
Canela	Soxhlet	28,70	29,40	30,10	29,40 ± 0,70

Nota. Autoría propia

La **Tabla 4** presenta el rendimiento obtenido mediante el método Soxhlet, donde el clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) alcanzó un rendimiento de 32,34 ± 0,60 %, mientras que la canela (*Cinnamomum verum*) presentó un rendimiento de 29,40 ± 0,70 %. Estos valores indican una diferencia de 2,94 % entre las matrices vegetales extraídas, lo que sugiere que la extracción de clavo de olor permitió recuperar una mayor cantidad de extracto.

Al comparar los valores de la **Tabla 3** y la **Tabla 4**, se evidenció una diferencia de más del 5 % entre los métodos de extracción del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), lo que sugiere que el método Soxhlet recupera una mayor cantidad de compuestos. Además, los resultados de extracción de canela presentaron una diferencia aproximada del 4 %, mostrando el mismo comportamiento. Esto demuestra que la extracción Soxhlet permite recuperar una mayor cantidad de compuestos en comparación con la extracción hidroalcohólica.

El rendimiento de un extracto expresa la cantidad total de material recuperado; sin embargo, no diferencia los compuestos obtenidos, como metabolitos secundarios, fenoles, pigmentos y otros compuestos bioactivos. **Cao et al. (2025)** expresan que el método de extracción no solo afecta el rendimiento, sino también el perfil fitoquímico y la bioactividad, por lo que dos extractos pueden presentar actividades biológicas diferentes, aunque provengan de la misma matriz vegetal. Por esta razón, a pesar de que el método Soxhlet presentó mayor rendimiento, se deberían realizar análisis de fenoles totales, flavonoides, capacidad antioxidante y actividad antifúngica para determinar cuál extracto presenta mayor potencial bioactivo.

El mayor rendimiento se obtuvo en el clavo de olor frente a la canela, lo cual puede estar relacionado con su composición fitoquímica. El clavo de olor es una especie con altos niveles de eugenol, acetato de eugenilo, β -cariofileno y otros compuestos fenólicos, los cuales han sido asociados con actividad antioxidante, antimicrobiana y antifúngica. **Afrendi et al. (2023)** mencionan que los extractos etanólicos de clavo presentan compuestos fenólicos importantes y actividad antioxidante marcada, lo que confirma que esta especie es una fuente concentrada de metabolitos bioactivos.

En el caso de la canela, el rendimiento fue menor en comparación con el clavo de olor; sin embargo, esto no reduce su importancia biológica. La canela es rica en cinamaldehído, ácido cinámico, compuestos fenólicos, flavonoides y aceites volátiles con reconocida actividad antimicrobiana y antioxidante. **Khedkar et al. (2023)** señalan que los extractos de canela contienen compuestos bioactivos como cinamaldehído, ácido cinámico y polifenoles. Por ello, aunque el rendimiento sea menor, su extracto podría presentar una actividad antifúngica relevante.

La diferencia entre la extracción Soxhlet y la hidroalcohólica también puede explicarse por las condiciones operativas. Algunos estudios han reportado que la extracción Soxhlet

alcanza valores más altos frente a la maceración, con rendimientos de $44 \pm 0,023$ % (Ghoshal, 2025). La extracción hidroalcohólica presentó rendimientos menores, pero puede considerarse una alternativa más sencilla y económica. Plaskova y Mlcek (2023) indican que los extractos obtenidos con agua o mezclas etanol-agua son relevantes para aplicaciones alimentarias, debido a que emplean solventes más seguros para la salud. Por lo tanto, la elección del mejor extracto debe basarse en la relación entre rendimiento, composición fitoquímica, actividad antifúngica, reproducibilidad, costo, seguridad del solvente y viabilidad de aplicación.

3.1.2. Formulación de emulsiones con el uso de extractos con potencial antifúngico obtenidos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).

3.1.2.1. Emulsión y control de calidad de los extractos Etanólico-Macerado

3.1.2.1.1 Características organolépticas de los extractos Etanólico-Macerado

La **Tabla 5** muestra los resultados de la formulación de las emulsiones y describe sus propiedades organolépticas. Estas fueron elaboradas a partir de los extractos hidroalcohólicos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). Estos parámetros permiten describir el comportamiento de las formulaciones y cómo se integran los extractos en las emulsiones.

Tabla 5

Propiedades organolépticas de las emulsiones de extractos por el método extracción hidroalcohólico.

Muestra	Color	Olor	Apariencia	Estabilidad visual
Emulsión de canela (<i>Cinnamomum verum</i>)	Marrón claro/intenso	Característico a canela	Homogénea	Sin separación de fases
Emulsión de clavo (<i>Syzygium aromaticum</i>).	Marrón oscuro	Intenso a clavo de olor	Homogénea	Sin separación de fases
Emulsión de canela y clavo de olor	Marrón oscuro/ámbar	Olor intenso dulce	Homogénea	Sin separación de fases

Nota. Autoría propia.

En la **Tabla 5** se presentan las propiedades organolépticas y la estabilidad visual de las emulsiones elaboradas. Las formulaciones fueron preparadas utilizando 5 mL de extracto, 2 mL de Tween 80 y 43 mL de agua destilada, obteniéndose una concentración final de 100 µL/mL de extracto en la emulsión para cada matriz vegetal.

La emulsión de canela presentó una coloración marrón claro/intenso, olor característico a canela, apariencia homogénea y ausencia de separación de fases. Este resultado indica una adecuada dispersión del extracto hidroalcohólico con los demás componentes de la formulación. La emulsión de clavo de olor mostró una coloración marrón oscuro, olor intenso característico a clavo, apariencia homogénea y estabilidad visual sin separación de fases. Por su parte, la emulsión mixta de canela y clavo de olor presentó un color marrón oscuro/ámbar, olor intenso dulce, apariencia homogénea y ausencia de separación de fases. Las tres emulsiones evidenciaron características físicas adecuadas, ya que no se observó separación visible entre la fase acuosa y los extractos de las matrices vegetales. La apariencia homogénea sugiere que la proporción empleada de extracto y Tween 80 fue adecuada para formar emulsiones visualmente estables.

Según **Pongsumpun et al. (2020)**, la formulación de nanoemulsiones de aceite esencial de canela utilizando Tween 80 reportó buena estabilidad durante 90 días, además de una mayor actividad antifúngica. Aunque en la presente investigación se trabajó con extractos hidroalcohólicos y no con aceite esencial, la ausencia de separación de fases coincide con la función estabilizante descrita para este emulsificante. La coloración marrón claro/intenso observada en la emulsión de canela puede relacionarse con la presencia de compuestos fenólicos y aldehídos aromáticos propios de la corteza de *Cinnamomum verum*, entre ellos el cinamaldehído, compuesto asociado con actividad antimicrobiana y antifúngica. Estudios previos han demostrado que los extractos de *Cinnamomum zeylanicum* y *Cinnamomum verum* pueden afectar estructuras celulares de *Candida albicans*, incluida la pared celular (**Shahina et al., 2018**). Esto respalda el interés de investigar y formular bioproductos a partir de extractos de canela para mejorar su aplicación. Además, **Lin et al. (2024)** reportaron que la nanoemulsificación del aceite esencial de canela mejoró su eficacia terapéutica frente a la candidiasis vaginal. Esto sugiere que el uso de emulsiones puede favorecer la disponibilidad de compuestos bioactivos de origen aromático-vegetal.

La emulsión de clavo de olor presentó color marrón oscuro, olor intenso y ausencia de separación de fases, características esperadas debido a la composición aromática de *Syzygium aromaticum*, principalmente asociada al eugenol y a otros derivados fenólicos. **Yassin et al. (2020)** evaluaron extractos de clavo frente a especies de *Candida* y reportaron actividad antifúngica, identificando compuestos como eugenol, acetato de eugenilo y β -cariofileno como componentes de interés del extracto. De manera similar, **Pinto et al. (2009)** demostraron que el aceite esencial de clavo y el eugenol poseen actividad antifúngica considerable frente a hongos de interés clínico, como *Candida* sp., *Aspergillus* sp. y dermatofitos. Es importante señalar que la ausencia de separación de fases es un criterio inicial de estabilidad, pero no sustituye análisis fisicoquímicos más específicos. Según **Pongsumpun et al. (2020)**, la estabilidad de las emulsiones debe evaluarse mediante parámetros como tamaño de gota, índice de polidispersidad y viscosidad. Para evaluar la estabilidad de las emulsiones, también se deben considerar otros factores, como las condiciones de almacenamiento, la temperatura y la potencial zeta.

3.1.2.1.2 Características fisicoquímicas de los extractos Etanólico-Macerado

La **Tabla 6** muestra los resultados de la formulación de las emulsiones, considerando sus características fisicoquímicas, como el pH y la cantidad de sólidos totales. Estos parámetros permiten describir el comportamiento de las formulaciones y determinar si los extractos pueden incorporarse adecuadamente en la emulsión. El pH describe el grado de acidez del sistema, aspecto importante porque puede influir en la estabilidad de la emulsión. Por otro lado, los sólidos totales reflejan la cantidad de materia disuelta presente en la muestra, lo que se relaciona con la concentración de compuestos presentes en el extracto, la viscosidad y la estabilidad del sistema emulsionado.

Tabla 6

Resultados de la emulsión de los extractos de clavo de olor y canela por el método extracción hidroalcohólico.

Muestra hidroalcohólica	pH	Sólidos totales (%)
Emulsión de canela (<i>Cinnamomum verum</i>)	4,51 $\pm$ 00	3,59 $\pm$ 0,01 %
Emulsión de clavo (<i>Syzygium aromaticum</i>).	3,84 $\pm$ 00	4,10 $\pm$ 0,01 %

Emulsión de canela (<i>Cinnamomum</i>		
<i>verum</i>) y clavo de olor (<i>Syzygium</i>	4,17 ± 00	3,85 ± 00 %
<i>aromaticum</i>).		

Nota. Autoría propia.

En la **Tabla 6** se presentan los valores de pH y sólidos totales (%) de las emulsiones elaboradas a partir de extractos hidroalcohólicos de canela (*Cinnamomum verum*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y la mezcla de ambos extractos. La emulsión de canela presentó el valor de pH más alto, con $4,51 \pm 0,00$, lo que indica una naturaleza ácida moderada. En cuanto a los sólidos totales, se registró un valor de $3,59 \pm 0,01$ %, siendo el valor más bajo entre las tres emulsiones evaluadas. Por otra parte, la emulsión de clavo de olor presentó el pH más bajo, con $3,84 \pm 0,00$, evidenciando una mayor acidez. Además, registró el valor más alto de sólidos totales, con $4,10 \pm 0,01$ %. Este patrón puede relacionarse con una mayor presencia de compuestos solubles extraídos durante el proceso hidroalcohólico. La emulsión combinada de canela y clavo de olor presentó valores intermedios, con un pH de $4,17 \pm 0,00$ y sólidos totales de $3,85 \pm 0,00$ %. Este resultado refleja que la mezcla de canela y clavo de olor generó una formulación con características fisicoquímicas intermedias entre ambas matrices vegetales.

La emulsión de clavo de olor presentó el pH más bajo, con $3,84 \pm 0,00$, lo que sugiere una mayor acidez en comparación con la emulsión de canela y la formulación combinada. Este resultado puede estar asociado con la composición química del extracto hidroalcohólico del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), debido a que contiene compuestos fenólicos que influyen en sus propiedades fisicoquímicas. Para **Yassin et al. (2020)**, los extractos de clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) presentan actividad antifúngica frente a especies de *Candida* sp., la cual se relaciona con metabolitos como eugenol, acetato de eugenilo y β -cariofileno. Por tanto, el menor pH observado en la emulsión de clavo podría considerarse favorable por la presencia de compuestos bioactivos con potencial antifúngico.

La emulsión de canela registró el pH más alto, con $4,51 \pm 0,00$, y el menor contenido de sólidos totales, con $3,59 \pm 0,01$ %. Este resultado indica una menor cantidad de compuestos solubles transferidos al medio hidroalcohólico durante la extracción, en comparación con el extracto de clavo de olor. En investigaciones precedentes, la canela ha demostrado actividad antifúngica por la presencia de cinamaldehído, compuesto capaz de afectar estructuras celulares fúngicas. Según **Pongsumpun et al. (2020)**, las nanoemulsiones de aceite esencial de

canela presentan mayor actividad antifúngica frente a hongos como *Aspergillus niger*, *Rhizopus arrhizus*, *Penicillium* sp. y *Colletotrichum gloeosporioides*. Por otra parte, la emulsión de canela y clavo presentó valores intermedios tanto en pH, con $4,17 \pm 0,00$, como en sólidos totales, con $3,85 \pm 0,00$ %. Esta formulación resulta útil al combinar compuestos bioactivos de ambas especies vegetales. Según **Saracino et al. (2022)**, el cinamaldehído y el eugenol presentaron mayor actividad antifúngica frente a cepas de *Candida* spp. Esto respalda la importancia de evaluar emulsiones combinadas de canela y clavo de olor, ya que podrían presentar una actividad antifúngica relevante al combinarse en una misma formulación.

3.1.2.2. Emulsión y control de calidad de los extractos Metanólicos

3.1.2.2.1 Propiedades organolépticas de las emulsiones de extractos por el método extracción Soxhlet

La **Tabla 7** muestra los resultados de la formulación de las emulsiones y describe sus propiedades organolépticas. En esta tabla se analizan las emulsiones formuladas con extractos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) obtenidos mediante el método Soxhlet. Además, se comparó el comportamiento de los extractos concentrados en sistemas emulsionados, tomando en cuenta variables como color, olor, apariencia y estabilidad visual.

Tabla 7

Propiedades organolépticas de las emulsiones de extractos por el método extracción Soxhlet.

Muestra	Color	Olor	Apariencia	Estabilidad visual
Emulsión de canela (<i>Cinnamomum verum</i>)	Marrón claro	Intenso a canela	Homogénea	Sin separación de fases
Emulsión de clavo (<i>Syzygium aromaticum</i>)	Marrón oscuro	Intenso a clavo de olor	Homogénea	Sin separación de fases
Emulsión de canela y clavo de olor	Marrón/ámbar	Olor intenso a clavo mayor a clavo	Homogénea	Sin separación de fases

Nota. Autoría propia.

En la **Tabla 7** se presentan las propiedades organolépticas y la estabilidad visual de las emulsiones elaboradas con extractos de canela (*Cinnamomum verum*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y la mezcla de ambos, obtenidos mediante el método de extracción Soxhlet. Las formulaciones evaluadas permitieron observar diferencias en color y olor entre las emulsiones, aunque todas mantuvieron una apariencia homogénea y no presentaron separación visible de fases.

La emulsión de canela presentó una coloración marrón claro, con olor intenso a canela, apariencia homogénea y estabilidad visual ya que no se evidenció separación de fases. Este resultado indica que el extracto obtenido por Soxhlet pudo incorporarse correctamente al sistema emulsionado, formando una dispersión uniforme. La emulsión de clavo de olor mostró una tonalidad marrón oscura y olor intenso a clavo lo cual coincide con el perfil químico del clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). El clavo se caracteriza por su alto contenido de eugenol, acetato de eugenilo y β -cariofileno, compuestos asociados con su aroma intenso y con actividades biológicas como la antifúngica. Por su parte, la emulsión combinada de canela y clavo de olor presentó una coloración marrón/ámbar, olor intenso con predominio a clavo, apariencia homogénea y estabilidad visual sin separación de fases. Este comportamiento sugiere que la mezcla de ambos extractos fue físicamente compatible dentro del sistema emulsionado, sin generar inestabilidad visible. Las tres emulsiones preparadas con extractos Soxhlet presentaron características organolépticas aceptables principalmente por su homogeneidad y ausencia de separación de fases.

Estudios previos con emulsiones de aceite esencial y extractos de canela han demostrado que la formulación con Tween 80 mejora la estabilidad física y la actividad biológica. Lo que muestra la importancia del surfactante en sistemas que contienen compuestos aromáticos vegetales para realizar emulsiones **Pongsumpun et al. (2020)**. El clavo se caracteriza por su alto contenido de eugenol, compuestos asociados con su aroma intenso y con actividades biológicas como la antifúngica, mostrando la emulsión de clavo de olor mostró una tonalidad marrón oscura y olor intenso a clavo. La emulsión combinada de canela y clavo presentó color marrón/ámbar y olor intenso con predominio a clavo. Este resultado indica que organolépticamente el extracto de clavo tiene mayor influencia sobre la mezcla, posiblemente por su mayor intensidad aromática. Según **Wan et al. (2020)** las nanoemulsiones de aceite de clavo en agua inhiben el crecimiento de *Fusarium graminearum* y la producción de micotoxinas durante el malteado de cebada. Estos antecedentes investigativos permiten

interpretar que las emulsiones obtenidas podrían favorecer a los extractos de canela y clavo en su aplicación.

También es importante discutir el efecto del método Soxhlet sobre las características observadas. Este método favorece una extracción más exhaustiva debido al contacto repetido de la muestra vegetal con solvente caliente. Lo que puede incrementar la recuperación de compuestos solubles. En el caso del clavo según **Ghoshal et al. (2025)** el método Soxhlet presentó un mayor rendimiento de extracción de aceite esencial en comparación con la maceración. Esto puede ayudar a explicar la intensidad del color y del olor observada en la emulsión de clavo, así como el predominio aromático del clavo en la emulsión mixta.

Al comparar las características organolépticas de las emulsiones obtenidas por método hidroalcohólico y por Soxhlet se observa que ambos métodos permitieron obtener formulaciones homogéneas y sin separación visual de fases. Esto indica que independientemente del método de extracción, la formulación con Tween 80 y agua destilada fue adecuada para dispersar los extractos de canela (*Cinnamomum verum*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su mezcla. En las dos tablas, la estabilidad visual fue favorable lo cual sugiere que las emulsiones pueden emplearse como base para posteriores ensayos antifúngicos.

Sin embargo, se evidencian diferencias en la intensidad de color y olor. En las emulsiones hidroalcohólicas, la canela presentó una coloración marrón claro/intenso y olor característico, mientras que en Soxhlet se describió como marrón claro, pero con olor intenso a canela. Esto podría indicar que el Soxhlet favoreció una mayor extracción de compuestos aromáticos responsables del olor, aunque no necesariamente incrementó la intensidad del color. Según **Haro-González et al. (2025)** el método Soxhlet pudo favorecer una extracción más marcada de compuestos aromáticos del clavo, especialmente eugenol, haciendo que este extracto domine organolépticamente sobre la canela. Desde el punto de vista antifúngico, ambos métodos son útiles, pero podrían generar extractos con perfiles diferentes. Los extractos hidroalcohólicos pueden recuperar compuestos polares y semipolares, incluidos fenoles y otros metabolitos solubles en mezclas agua-alcohol. En cambio, el método Soxhlet, por su proceso de extracción continua con solvente caliente, puede favorecer una recuperación más intensa de compuestos menos polares o más asociados a la fracción aromática. En estudios sobre extractos de canela y clavo han reportado potencial biofungicida frente a *Botrytis cinerea*, mientras que formulaciones emulsionadas de aceites de canela y clavo han mostrado efectos antifúngicos

frente a hongos como *Fusarium graminearum*, *Aspergillus niger* y otros microorganismos de interés Šernaitė et al, (2020).

3.1.2.2.2 Propiedades fisicoquímicas de las emulsiones de extractos por el método extracción Soxhlet

La **Tabla 8** muestra los resultados de la formulación de las emulsiones, considerando sus características fisicoquímicas, como el pH y la cantidad de sólidos totales, a partir de los extractos obtenidos mediante el método Soxhlet. Además, se comparó el comportamiento de los extractos concentrados en sistemas emulsionados, tomando en cuenta variables como el pH y los sólidos totales.

Tabla 8

Resultados de la emulsión de los extractos de clavo de olor y canela por el método extracción Soxhlet.

Muestra Soxhlet	pH	Sólidos totales
Emulsión de canela (<i>Cinnamomum verum</i>)	5,36 ± 00	1,42 ± 00 %
Emulsión de clavo (<i>Syzygium aromaticum</i>).	3,88 ± 00	4,92 ± 0,01 %
Emulsión de canela (<i>Cinnamomum verum</i>) y clavo de olor (<i>Syzygium aromaticum</i>).	4,67 ± 00	3,16 ± 00 %

Nota. Autoría propia.

En la **Tabla 8** se presentan los valores de pH y sólidos totales de las emulsiones elaboradas con extractos de canela (*Cinnamomum verum*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su mezcla, obtenidos mediante el método de extracción Soxhlet.

La emulsión de canela presentó el pH más alto, con 5,36 ± 00 y el menor contenido de sólidos totales, con 1,42 ± 00 %. Este resultado indica que la formulación de canela obtenida por Soxhlet tuvo un carácter ligeramente ácido. La emulsión de clavo de olor mostró el pH más bajo, con 3,88 ± 00, y el valor más alto de sólidos totales, con 4,92 ± 0,01 %. Estos resultados evidencian que el extracto Soxhlet de clavo aportó una mayor carga de compuestos disueltos a

la emulsión. La emulsión combinada de canela y clavo de olor presentó valores intermedios, con un pH de $4,67 \pm 00$ y sólidos totales de $3,16 \pm 00$ %. Este comportamiento sugiere que la mezcla mantuvo características fisicoquímicas equilibradas entre los extractos individuales.

Los resultados muestran que el método Soxhlet generó emulsiones con diferencias fisicoquímicas marcadas entre canela y clavo de olor. El mayor valor de pH observado en la emulsión de canela ($5,36 \pm 00$) indica que esta formulación fue menos ácida que la de clavo y la mezcla. Sin embargo, su menor contenido de sólidos totales ($1,42 \pm 00$ %) sugiere que el extracto Soxhlet de canela incorporó una menor cantidad de compuestos solubles en la emulsión. Esto no significa necesariamente menor actividad antifúngica, por lo que el cinamaldehído pueden ejercer efectos biológicos importantes incluso en concentraciones moderadas (**Zhang et al., 2018**). En contraste, la emulsión de clavo de olor presentó el mayor contenido de sólidos totales ($4,92 \pm 00$ %) y el pH más bajo ($3,88 \pm 00$). Este comportamiento puede relacionarse con la alta proporción de compuestos fenólicos y bioactivos (**Wan et al., 2020**). La emulsión combinada de canela y clavo presentó valores intermedios de pH y sólidos totales. Este resultado es favorable al integrar compuestos como cinamaldehído y eugenol, los cuales han sido asociados con alteraciones en membrana celular, pared celular y metabolismo fúngico.

Al comparar los resultados obtenidos por extracción hidroalcohólica y por Soxhlet, se observan diferencias importantes en pH y sólidos totales. En la emulsión de canela el método hidroalcohólico presentó un pH de $4,51 \pm 0,02$ y sólidos totales de $3,59 \pm 0,01$ %, mientras que el método Soxhlet presentó un pH más alto de $5,36 \pm 0,02$ y sólidos totales menores de $1,42 \pm 00$ %. Esto sugiere que la canela, el método hidroalcohólico permitió incorporar una mayor proporción de compuestos solubles en la emulsión. En el caso del clavo de olor ambos métodos generaron emulsiones ácidas, pero el Soxhlet presentó un contenido de sólidos mayor. Por otra parte, la emulsión combinada, el método hidroalcohólico presentó pH $4,17 \pm 00$ y $3,85 \pm 00$ % de sólidos totales, mientras que el método Soxhlet registró pH $4,67 \pm 00$ y $3,155 \pm 00$ %. El método hidroalcohólico favorece una mayor incorporación de compuestos solubles totales, mientras que Soxhlet generó una emulsión con menor carga sólida y pH más elevado.

Desde un punto de vista crítico no se puede afirmar que un método sea mejor. El método hidroalcohólico mostró mejores valores de sólidos en canela y en la mezcla, mientras que Soxhlet destacó en clavo de olor. Esto sugiere que la eficiencia de extracción depende directamente de la matriz vegetal. La literatura sobre extracción de compuestos fenólicos señala

que la recuperación de metabolitos depende del método, el solvente, la polaridad de los compuestos, la temperatura y el tiempo de extracción (Osorio-Tobón, 2020).

3.1.3. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima antifúngica (CMF) de los extractos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*).

3.1.3.1. Concentración Mínima Fungicida (CMF) y Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

La **Tabla 9**, correspondiente a la concentración mínima fungicida (CMF), muestra las concentraciones requeridas para provocar la muerte celular en cepas de *Candida albicans*, *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. tras el tratamiento con emulsiones de canela, clavo de olor y su mezcla. La CMF permite identificar la concentración a partir de la cual los extractos ejercen un efecto fungicida.

Tabla 9

Valores de la concentración mínima fúngica (CMF) para cepas de C. albicans, Fusarium sp. y Aspergillus sp.

Extracto	Emulsión con extracto.	CMF (uL/mL)		
		<i>C. albicans</i>	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Aspergillus</i> sp.
Etanólico-macerado	Canela (uL/mL)	100 ±00	95±5,77	100±00
	Clavo (uL/mL)	60±00	60±00	60±00
	Mezcla (uL/mL)	40±00	40±00	40±00
Metonólico- Soxhlet	Canela (uL/mL)	100 ±00	80±00	80±00
	Clavo (uL/mL)	60±00	40±00	40±00
	Mezcla (uL/mL)	40±00	20±00	20±00

Nota. Autoría propia

La **Tabla 10**, correspondiente a la concentración mínima inhibitoria (CMI), presenta los valores necesarios para inhibir el crecimiento de cepas de *Candida albicans*, *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. mediante emulsiones elaboradas con extractos de canela (*Cinnamomum verum*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y su mezcla. Los tratamientos fueron obtenidos

mediante dos métodos de extracción: maceración etanólica y extracción Soxhlet con metanol. Esta evaluación permite comparar la eficacia inhibitoria de cada emulsión, considerando que valores más bajos de CMI indican una mayor capacidad antifúngica del tratamiento frente al microorganismo evaluado.

Tabla 10

Valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) para cepas de C. albicans, Fusarium sp. y Aspergillus sp.

Extracto	Emulsión con extracto.	CMI (uL/mL)		
		<i>C. albicans</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>
Etanólico-macerado	Canela (uL/mL)	96,67±2,89	91,67±2,89	85±00
	Clavo (uL/mL)	56,67±2,89	55±00	46,67±2,89
	Mezcla (uL/mL)	35±00	31,67±2,89	26,67±2,89
Metonólico-Soxhlet	Canela (uL/mL)	95±00	73,33 ± 5,77	75±00
	Clavo (uL/mL)	51,67 ± 2,89	31,67 ± 2,89	26,67±2,89
	Mezcla (uL/mL)	28,33 ± 2,89	15±00	13,33±2,89

Nota. Autoría propia

La evaluación antifúngica mediante microdilución en placas permitió determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima fungicida (CMF) de emulsiones elaboradas con extractos de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) frente a *Candida albicans*, *Fusarium sp.* y *Aspergillus sp.* Los resultados evidencian que las emulsiones formuladas con mezcla de canela y clavo presentaron la mayor actividad antifúngica debido a que necesitaron menores concentraciones para inhibir y eliminar el crecimiento fúngico. Este comportamiento coincide con lo reportado por **Shahina et al. (2022)**, quienes observaron que los aceites esenciales de canela y clavo presentan actividad frente a *C. albicans* y que su combinación puede generar efectos aditivos o sinérgicos.

En la CMI, la emulsión etanólica-macerada de canela presentó los valores más altos frente a los tres microorganismos evaluados: 96,67 ± 2,89 µL/mL para *C. albicans*, 91,67 ± 2,89 µL/mL para *Fusarium sp.* y 85 ± 0,00 µL/mL para *Aspergillus sp.* Esto indica una menor potencia inhibitoria cuando la canela se aplicó de forma individual. En cambio, la emulsión de

clavo mostró valores menores, con $56,67 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$ frente a *C. albicans*, $55 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ frente a *Fusarium* sp. y $46,67 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$ frente a *Aspergillus* sp. La mezcla etanólica-macerada fue más efectiva, ya que redujo la CMI a $35 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$, $31,67 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$ y $26,67 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$, respectivamente. Estos resultados sugieren que la combinación de metabolitos bioactivos de ambas especies vegetales favoreció una mayor inhibición fúngica que los extractos por separado.

En el caso del método metanólico-Soxhlet, se observó una mejora evidente de la actividad antifúngica. La emulsión de canela presentó CMI de $95 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ para *C. albicans*, $73,33 \pm 5,77 \mu\text{L/mL}$ para *Fusarium* sp. y $75 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ para *Aspergillus* sp.; mientras que la emulsión de clavo alcanzó valores de $51,67 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$, $31,67 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$ y $26,67 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$, respectivamente. La mayor actividad se registró nuevamente con la mezcla canela-clavo obtenida por Soxhlet, con CMI de $28,33 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$ para *C. albicans*, $15 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ para *Fusarium* sp. y $13,33 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$ para *Aspergillus* sp. Estos valores demuestran que el método Soxhlet favoreció la obtención de compuestos con mayor capacidad inhibitoria posiblemente por una mejor extracción de metabolitos fenólicos y compuestos aromáticos lipofílicos, como cinamaldehído y eugenol. **Tran et al. (2020)** reportaron que aceites de *Cinnamomum zeylanicum* poseen actividad antifúngica frente a *Candida albicans* y *Candida auris*, lo que respalda el potencial de la canela como fuente de compuestos antifúngicos.

Los resultados CMF en el extracto etanólico-macerado, la emulsión de canela requirió $100 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ frente a *C. albicans* y *Aspergillus* sp., y $95 \pm 5,77 \mu\text{L/mL}$ frente a *Fusarium* sp. La emulsión de clavo presentó una CMF constante de $60 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ para los tres hongos. La mezcla redujo la CMF a $40 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ frente a todos los microorganismos, confirmando que la combinación de extractos mejora el efecto fungicida.

En el método metanólico-Soxhlet, la mezcla volvió a mostrar la mayor eficacia fungicida, con CMF de $40 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ frente a *C. albicans*, $20 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ frente a *Fusarium* sp. y $20 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ frente a *Aspergillus* sp. Estos valores son inferiores a los obtenidos con canela sola, que necesitó $100 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$, $80 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ y $80 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$, respectivamente. También fueron menores que los del clavo solo, especialmente frente a *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp., donde la CMF fue de $40 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$. La reducción de la CMF en la mezcla puede atribuirse a la interacción entre compuestos como el cinamaldehído y el eugenol, los cuales han sido descritos como moléculas antifúngicas capaces de alterar la

membrana celular, afectar el contenido de ergosterol y comprometer la viabilidad fúngica. **Essid et al. (2017)** reportaron que *Cinnamomum verum* y *Syzygium aromaticum* presentan actividad anti-*Candida*, y que el aceite de *C. verum* puede reducir el ergosterol celular, afectando la integridad de la membrana fúngica.

Al comparar los microorganismos evaluados, *Candida albicans* fue el patógeno que requirió concentraciones más elevadas especialmente en CMF, donde incluso la mezcla Soxhlet necesitó $40 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$. Por el contrario, *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp. fueron más sensibles a la mezcla Soxhlet, con CMI de $15 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ y $13,33 \pm 2,89 \mu\text{L/mL}$, respectivamente, y CMF de $20 \pm 0,00 \mu\text{L/mL}$ en ambos casos. Esta diferencia puede relacionarse con la composición de pared celular, membrana, producción de enzimas y respuesta al estrés oxidativo. En *Fusarium* sp., **Wei et al. (2020)** demostraron que el cinamaldehído puede inhibir el crecimiento fúngico al afectar la biosíntesis de ergosterol, disminuir el potencial de membrana mitocondrial e inducir acumulación de especies reactivas de oxígeno.

La respuesta frente a *Aspergillus* sp. también respalda el potencial antifúngico de la mezcla canela-clavo, ya que este género fue inhibido y eliminado con las concentraciones más bajas en el tratamiento Soxhlet. Estudios en *Aspergillus niger* han descrito que el cinamaldehído presenta actividad antifúngica y puede afectar el crecimiento micelial y procesos celulares asociados a la viabilidad del hongo (**Tran et al., 2020**). Además, investigaciones con clavo han reportado que el aceite esencial de *Syzygium aromaticum* y su principal compuesto, el eugenol, poseen actividad frente a hongos clínicamente relevantes, incluyendo cepas resistentes a fluconazol, lo que coincide con la respuesta observada en esta investigación. Los resultados permiten afirmar que la emulsión de mezcla canela-clavo obtenida por Soxhlet fue el tratamiento más eficiente, al presentar las menores CMI y CMF en los tres hongos evaluados. La mínima diferencia entre ambos valores, especialmente en *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp., sugiere que la formulación no solo inhibió el crecimiento, sino que también ejerció un efecto fungicida a concentraciones cercanas. Esto concuerda con **Saracino et al. (2022)**, quienes reportaron que el cinamaldehído y el eugenol inhibieron cepas de *Candida* sp. y mostraron efecto aditivo al combinarse, respaldando la superioridad de las mezclas frente a los tratamientos individuales.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- EL método Soxhlet presentó mayor eficiencia extractiva en ambas especies vegetales, registrando los rendimientos más altos en clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) con $32,34 \pm 0,60$ % y en canela (*Cinnamomum verum*) con $29,0 \pm 0,70$ %. En comparación, la extracción hidroalcohólica mostró valores menores, con $27,34 \pm 0,15$ % para clavo de olor y $25,40 \pm 0,45$ % para canela. Estos resultados evidencian que el Soxhlet favoreció una mayor recuperación de compuestos extractables. Sin embargo, aunque el método Soxhlet fue más eficiente en términos de rendimiento, la selección del método de extracción debe considerar no solo la cantidad de extracto obtenido, sino también el perfil de compuestos bioactivos recuperados y la actividad antifúngica esperada.
- Las emulsiones elaboradas con canela (*Cinnamomum verum*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) y la mezcla de ambos extractos, obtenidas mediante los métodos hidroalcohólico y Soxhlet, mostraron características organolépticas coherentes con la naturaleza de las matrices vegetales empleadas, así como una estabilidad visual favorable. La formulación con Tween 80 permitió obtener sistemas homogéneos a una concentración final de 100 $\mu\text{L/mL}$ de extracto, lo que respalda su uso como vehículo para evaluar la actividad antifúngica. Además, la mezcla de canela y clavo de olor se presenta como una formulación prometedora, debido a la posible complementariedad entre los compuestos bioactivos de ambas especies vegetales.
- El método Soxhlet permitió obtener emulsiones con mejor respuesta antifúngica que el método etanólico-macerado, especialmente frente a *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp., donde la mezcla de canela (*Cinnamomum verum*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*) alcanzó valores de CMI de $15 \pm 0,00$ $\mu\text{L/mL}$ y $13,33 \pm 2,89$ $\mu\text{L/mL}$, respectivamente. Además, la mezcla de ambos extractos fue más efectiva que los tratamientos individuales, lo que sugiere una posible interacción favorable entre compuestos bioactivos como el cinamaldehído y el eugenol.

4.2. Recomendaciones

- Controlar cuidadosamente las condiciones de extracción, como tiempo, temperatura, tipo de solvente y número de ciclos especialmente en el método Soxhlet, ya que temperaturas elevadas y tiempos prolongados pueden degradar compuestos sensibles al calor y reducir el rendimiento final.
- Realizar un análisis cromatográfico como HPLC que permita identificar todos los metabolitos secundarios presentes en los extractos de canela y clavo de olor.
- Esterilizar previamente todo el material de trabajo, como puntas, micropipetas, tubos, placas, medios de cultivo y soluciones, para evitar la presencia de microorganismos ajenos al ensayo que puedan alterar los resultados de CMI y CMF.
- Trabajar cada cepa fúngica por separado, manteniendo una correcta rotulación de placas, tubos y microplacas, con el objetivo de evitar contaminación cruzada entre *Candida albicans*, *Fusarium* sp. y *Aspergillus* sp.

BIBLIOGRAFÍA

- Aisy, D. U. R., Adawiyah, R., Rozaliyani, A., Estuningtyas, A., & Fadilah, F. (2023). The antifungal activities of *Syzygium aromaticum* and *Alpinia purpurata* extracts against *Candida krusei*: Bioactivity tests, molecular modeling, and toxicity tests. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 24(10), 3403–3409. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2023.24.10.3403>
- avindran, P. N., Nirmal-Babu, K., & Shylaja, M. (Eds.). (2004). Cinnamon and cassia: The genus *Cinnamomum*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203590874>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med aromat plants*, 4(196), 2167-0412.
- 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>
- 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. *Biomolecules*, 10(2), 202. <https://doi.org/10.3390/biom10020202>
- Bibow, A., Brana, M. T. C., Böhmer, A. I., Kindinger, F., Morshed, N., Rahimi, A., Pradhan, B., Silvério, M. R. S., Salehi, B., Setzer, W. N., Sharopov, F., Valussi, M., & Ritter, M. (2024). Essential oils as potential natural antioxidants, antimicrobial agents, and synergists in combating antimicrobial resistance. *Antibiotics*, 13(12), 1168. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13121168>
- Curto, M. Á., Butassi, E., Ribas, J. C., Svetaz, L. A., & Cortés, J. C. G. (2021). Natural products targeting the synthesis of $\beta(1,3)$ -D-glucan and chitin of the fungal cell wall. Existing drugs and recent findings. *Phytomedicine*, 88, 153556. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153556>

- D'Agostino, M., Tesse, N., Frippiat, J.-P., Machouart, M., & Debourgogne, A. (2019). Essential oils and their natural active compounds presenting antifungal properties. *Molecules*, 24(20), 3713. <https://doi.org/10.3390/molecules24203713>
- De Sousa, D., Oliveira, K., Nobrega, J. R., & de, E. (2024). Antifungal activity of isoeugenol and its interaction with nystatin against *Candida tropicalis* and *Candida glabrata* mouth isolates: an in vitro study. *OBSERVATORIO de LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA*, 22(7), e6015-e6015. <https://doi.org/10.55905/oelv22n7-290>
- Didehdar, M., Chegini, Z., Shariati, A., & Ghasemian, A. (2022). Eugenol: A novel therapeutic agent for the inhibition of *Candida* species infection. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 872127. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.872127>
- El Atki, Y., Aouam, I., El Kamari, F., Taroq, A., Nayme, K., Timinouni, M., Lyoussi, B., & Abdellaoui, A. (2019). Antibacterial activity of cinnamon essential oils and their & research, 10(2), 63–67. https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR_366_18
- El Khetabi, A., Lahlali, R., Ezrari, S., Radouane, N., Lyousfi, N., Jerri, H., & El Ghadraoui, L. (2022). Role of plant extracts and essential oils in fighting against postharvest fruit pathogens and extending fruit shelf life: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 402–417. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.009>
- Essid, R., Hammami, M., Gharbi, D., Karkouch, I., Ben Hamouda, T., Elkahoui, S., Limam, F., & Tabbene, O. (2017). Antifungal mechanism of the combination of *Cinnamomum verum* and *Pelargonium graveolens* essential oils with fluconazole against pathogenic *Candida* strains. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(18), 6993–7006. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8442-y>
- Fisher, M. C., Alastruey-Izquierdo, A., Berman, J., Bicanic, T., Bignell, E. M., Bowyer, P., Bromley, M., Brüggemann, R., Garber, G., Cornely, O. A., Gurr, S. J., Harrison, T. S., Kuijper, E., Rhodes, J., Sheppard, D. C., Warris, A., White, P. L., Xu, J., Zwaan, B., Verweij, P. E., & Casadevall, A. (2022). Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. *Nature Reviews Microbiology*, 20(9), 557–571. <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00720-1>
- Fisher, M. C., Burnett, F., Chandler, C., Gow, N. A., Gurr, S., Hart, A., ... & Armstrong-James, D. (2024). A one health roadmap towards understanding and mitigating emerging Fungal Antimicrobial Resistance: fAMR. *npj Antimicrobials and Resistance*, 2(1), 36.

- Flekka, K., Dimaki, V. D., Mourelatou, E., Avgoustakis, K., Lamari, F. N., & Hatziantoniou, S. (2024). Stability and retention of nanoemulsion formulations incorporating lavender essential oil. *Cosmetics*, 11(3), 65. <https://doi.org/10.3390/cosmetics11030065>
- Food and Agriculture Organization. (2024). *Guidelines for the registration of microbial, botanical and semiochemical pest control agents for plant protection and public health uses*. FAO. <https://openknowledge.fao.org/items/f8fd05c5-4af6-4350-b592-733800463ce2>
- Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., & Espinosa-Andrews, H. (2021). Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*, 26(21), 6387. <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>
- Hong, C., Wang, X., Xu, J., Guo, J., Peng, H., & Zhang, Y. (2023). A Review: Pharmacological Effect of Natural Compounds in Diospyros kaki Leaves from the Perspective of Oxidative Stress. *Molecules*, 29(1), 215. <https://doi.org/10.3390/molecules29010215>
- Hosny, K. M., Abualsunun, W. A., Bakhaidar, R. B., Almeahmady, A. M., Alshehri, S., Alrobaian, M. M., Alharbi, W. S., & Alalaiwe, A. (2021). Development and optimization of cinnamon oil nanoemulgel for enhancement of solubility and evaluation of antibacterial, antifungal and analgesic effects against oral microbiota. *Pharmaceutics*, 13(7), 1008. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13071008>
- Khumra, S., Mahony, A. A., Devchand, M., Walker, S. T., Garrett, K., Grayson, M. L., & Trubiano, J. A. (2019). Counting the cost of critical antibiotic shortages. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 74(1), 273-275.
- Leiva-Mora, M., Salas-Sanjuán, M. C., Ariza-Castolo, A., & Sánchez-Rodríguez, L. (2025). Antifungal mechanisms of plant essential oils: Their impact on fungal pathogens, food preservation, and sustainable crop protection. *Agriculture*, 15(21), 2303. <https://doi.org/10.3390/agriculture15212303>
- Lin, Y. T., Tsai, W. C., Lu, H. Y., Fang, S. Y., Chan, H. W., & Huang, C. H. (2024). Enhancing therapeutic efficacy of cinnamon essential oil by nanoemulsification for intravaginal treatment of *Candida* vaginitis. *International Journal of Nanomedicine*, 19, 4941–4956. <https://doi.org/10.2147/IJN.S458593>

- Long, Y., Xu, J., Hu, Z., Fan, X.-Y., & Wang, H. (2024). Antifungal activity of cinnamaldehyde derivatives against fluconazole-resistant *Candida albicans*. *Microbial Pathogenesis*, <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.106877>
- Mani-López, E., Cortés-Zavaleta, O., & López-Malo, A. (2021). A review of the methods used to determine the target site or the mechanism of action of essential oils and their components against fungi. *SN Applied Sciences*, 3, 44. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-04102-1>
- Montiel, D. G., Barrera, A. L. G., Ávila, G. C. G. M., Hernandez, M. D. G., Vela, N. a. C., Gonzalez, F. J. A., & Castillo, F. Y. R. (2023). Influence of the Extraction Method on the Polyphenolic Profile and the Antioxidant Activity of *Psidium guajava* L. Leaf Extracts. *Molecules*, 29(1), 85. <https://doi.org/10.3390/molecules29010085>
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., & Feo, V. D. (2017). Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceutics*, 10(4), 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Anthony, S. (2009). Agroforestry Database: A tree reference and selection guide version 4.0. World Agroforestry Centre.
- Osorio-Tobón, J. F. (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 4299–4315. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04433-2>
- Pongsumpun, P., Iwamoto, S., & Siripatrawan, U. (2020). Response surface methodology for optimization of cinnamon essential oil nanoemulsion with improved stability and antifungal activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 60, 104604. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.05.021>
- Pootong, A., Norrapong, B., & Cowawintaweewat, S. (2017). Antifungal activity of cinnamaldehyde against *Candida albicans*. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 48(1), 150–158. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29644831/>
- Ristaino, J. B., Anderson, P. K., Bebber, D. P., Brauman, K. A., Cunniffe, N. J., Fedoroff, N. V., Finegold, C., Garrett, K. A., Gilligan, C. A., Jones, C. M., Martin, M. D., MacDonald, G. K., Neenan, P., Records, A. R., Schmale, D. G., Tateosian, L., & Wei, Q. (2021). The persistent threat of emerging plant disease pandemics to global food

- security. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(23), e2022239118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2022239118>
- Saracino, I. M., Foschi, C., Pavoni, M., Spigarelli, R., Valerii, M. C., & Spisni, E. (2022). Antifungal activity of natural compounds vs. *Candida* spp.: A mixture of cinnamaldehyde and eugenol shows promising in vitro results. *Antibiotics*, 11(1), 73. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010073>
- Šernaitė, L., Rasiukevičiūtė, N., Valiuškaitė, A., & Valiuškaitė, A. (2020). The extracts of cinnamon and clove as potential biofungicides against strawberry grey mould. *Plants*, 9(5), 613. <https://doi.org/10.3390/plants9050613>
- Shahina, Z., El-Ganiny, A. M., Minion, J., Whiteway, M., Sultana, T., & Dahms, T. E. S. (2018). *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil induces cell wall remodelling and spindle defects in *Candida albicans*. *Fungal Biology and Biotechnology*, 5, 3. <https://doi.org/10.1186/s40694-018-0046-5>
- Shahina, Z., Molaeitabari, A., Sultana, T., & Dahms, T. E. S. (2022). Cinnamon leaf and clove essential oils are potent inhibitors of *Candida albicans* virulence traits. *Microorganisms*, 10(10), 1989. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10101989>
- Silva, I., Santos, H., Cavalcanti, Y., Nonaka, C., Sousa, S., & Castro, R. (2017). Antifungal Activity of Eugenol and its Association with Nystatin on *Candida albicans*. *Pesquisa Brasileira Em Odontopediatria E Clínica Integrada*, 17(1), <https://www.redalyc.org/pdf/637/63749543017.pdf>
- Singh, N., Rao, A. S., Nandal, A., Kumar, S., Yadav, S. S., Ganaie, S. A., & Narasimhan, B. (2021). Phytochemical and pharmacological review of *Cinnamomum verum* J. Presl—A versatile spice used in food and nutrition. *Food Chemistry*, 338, 127773. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127773>
- Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., ... & Rather, M. A. (2019). A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 134, 103580. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103580>

- Tran, H. N. H., Graham, L., & Adukwu, E. C. (2020). In vitro antifungal activity of *Cinnamomum zeylanicum* bark and leaf essential oils against *Candida albicans* and *Candida auris*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(20), 8911–8924. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10829-z>
- Valková, V., Ďúranová, H., Galovičová, L., Vukovic, N. L., Vukic, M., Kowalczewski, P. Ł., & Kačániová, M. (2022). Application of three types of cinnamon essential oils as natural antifungal preservatives in wheat bread. *Applied Sciences*, 12(21), 10888. <https://doi.org/10.3390/app122110888>
- Wan, J., Jin, Z., Zhong, S., Schwarz, P., Chen, B., & Rao, J. (2020). Clove oil-in-water nanoemulsion: Mitigates growth of *Fusarium graminearum* and trichothecene mycotoxin production during the malting of *Fusarium*-infected barley. *Food Chemistry*, 312, 126120. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.126120>
- Wei, J., Bi, Y., Xue, H., Wang, Y., Zong, Y., & Prusky, D. (2020). Antifungal activity of cinnamaldehyde against *Fusarium sambucinum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. *Journal of Applied Microbiology*, 129(2), 256–265. <https://doi.org/10.1111/jam.14601>
- Wisal, G. Abdalla. (2018). Antibacterial and Antifungal Effect of Cinnamon. *Microbiology Research Journal International*, 23(6), 1–8. <https://doi.org/10.9734/MRJI/2018/41345>
- World Health Organization. (2022). *WHO fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action*. World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>
- Xu, J. (2022). Assessing global fungal threats to humans. *mLife*, 1(3), 223–240. <https://doi.org/10.1002/mlf2.12036>
- Yaakoub, H., Mina, S., Calenda, A., Bouchara, J.-P., & Papon, N. (2022). Oxidative stress response pathways in fungi. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 79, 333. <https://doi.org/10.1007/s00018-022-04353-8>
- Yassin, M. T., Mostafa, A. A. F., & Al-Askar, A. A. (2020). In vitro anticandidal potency of *Syzygium aromaticum* (clove) extracts against vaginal candidiasis. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20, 25. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-2818-8>

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine*, 13, Article 20.
<https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

ANEXOS

Anexo 1

Resultados del rendimiento de la extracción hidroalcohólica y Soxhlet de canela (Cinnamomum verum) y clavo de olor (Syzygium aromaticum).

Especie	Método de extracción	R1 %	R2 %	R3%	Media (+/-)
Clavo de olor	Soxhelt	31,74	32,34	32,94	32,34 ± 0,60
Clavo de olor	Hidroalcohólica	27,19	27,34	27,49	27,34 ± 0,15
Canela	Soxhelt	28,70	29,40	30,10	29,40 ± 0,70
Canela	Hidroalcohólica	24,95	25,40	25,85	25,40 ± 0,45

Anexo 2

Concentraciones de los estratos por el método Soxhlet frente a Candida albicans.

<i>Candida albicans</i>									
Concentración	Canela				Clavo				Mezcla
10 uL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 uL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40 uL/mL	+	+	+	+	+	+	-	-	-
60 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
80 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
100 uL/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control +	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control -	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Anexo 3

Concentraciones de los estratos por el método Soxhlet frente a Fusarium sp.

<i>Fusarium sp.</i>									
Concentración	Canela				Clavo				Mezcla
10 uL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 uL/mL	+	+	+	+	+	+	-	-	-
40 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
60 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
80 uL/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100 uL/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control +	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control -	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Anexo 4

Concentraciones de los estratos por el método Soxhlet frente a Aspergillus sp.

<i>Aspergillus sp.</i>									
Concentración	Canela				Clavo				Mezcla
10 uL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
40 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-

60 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
80 uL/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
100 uL/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control +	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control -	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Anexo 5

Concentraciones de los estratos por el método Hidroalcohólico frente a Candida albicans.

<i>Candida albicans</i>									
Concentración	Canela			Clavo			Mezcla		
10 uL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20 uL/mL	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40 uL/mL	+	+	+	+	+	+	-	-	-
60 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
80 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
100 uL/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control +	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control -	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Anexo 6

Concentraciones de los estratos por el método Hidroalcohólico frente a Fusarium sp.

<i>Fusarium sp.</i>									
<i>Concentración</i>	<i>Canela</i>				<i>Clavo</i>			<i>Mezcla</i>	
<i>10 uL/mL</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>20 uL/mL</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>40 uL/mL</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-
<i>60 uL/mL</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>80 uL/mL</i>	-	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>100 uL/mL</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Control +</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Control -</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Anexo 7

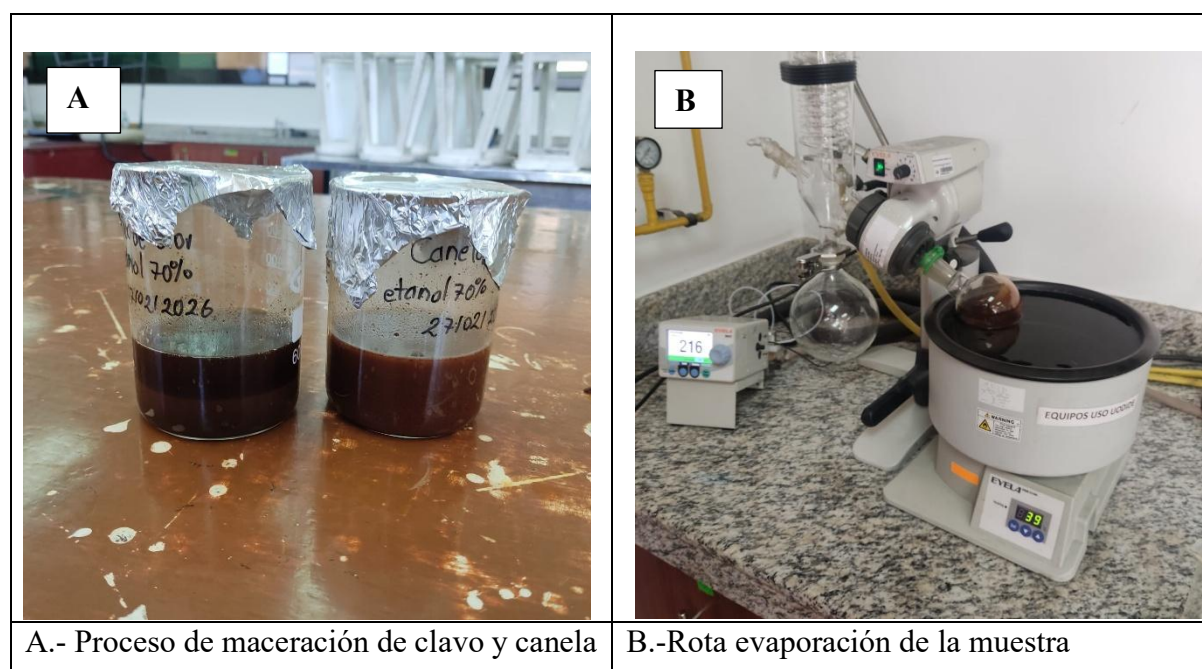
Concentraciones de los estratos por el método Hidroalcohólico frente a Aspergillus sp.

<i>Aspergillus sp.</i>									
<i>Concentración</i>	<i>Canela</i>				<i>Clavo</i>			<i>Mezcla</i>	
<i>10 uL/mL</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>20 uL/mL</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>40 uL/mL</i>	+	+	+	+	+	+	-	-	-

60 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
80 uL/mL	+	+	+	-	-	-	-	-	-
100 uL/mL	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control +	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Control -	+	+	+	+	+	+	+	+	+

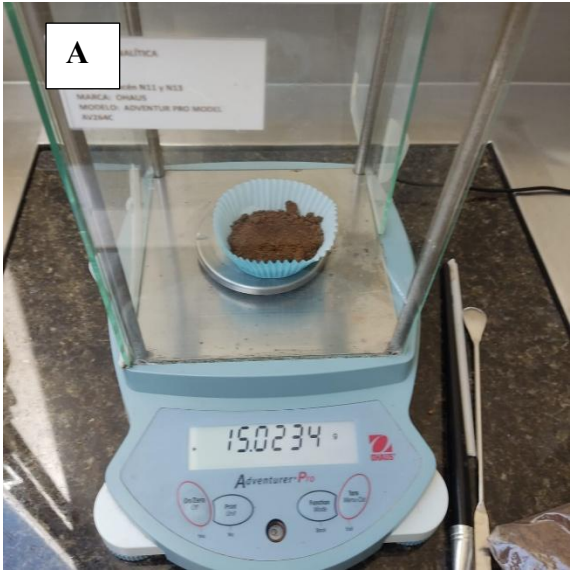
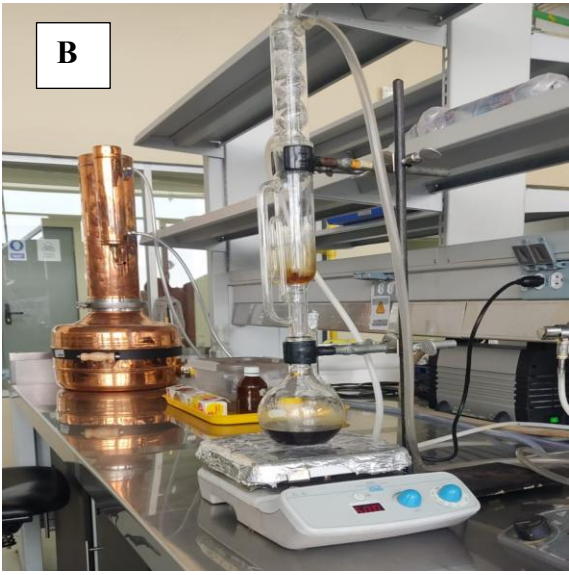
Anexo 8

Proceso de extracción hidroalcohólica de las muestras de canela y clavo



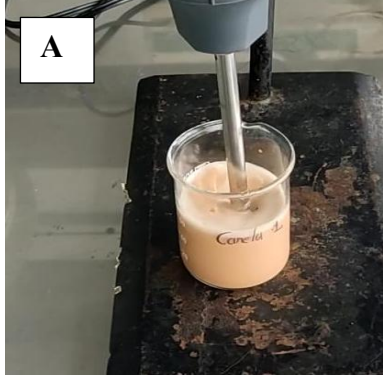
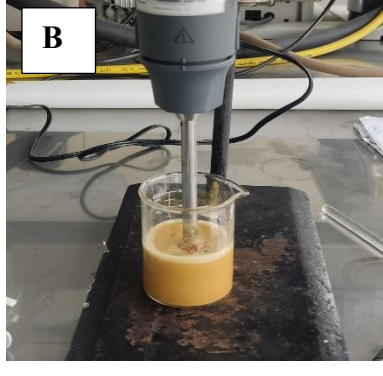
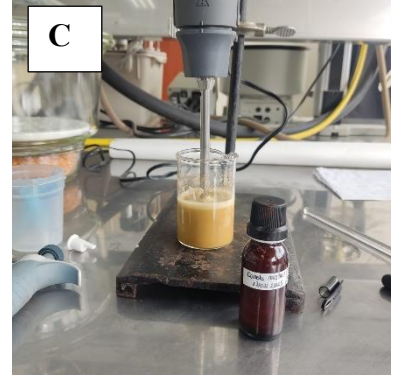
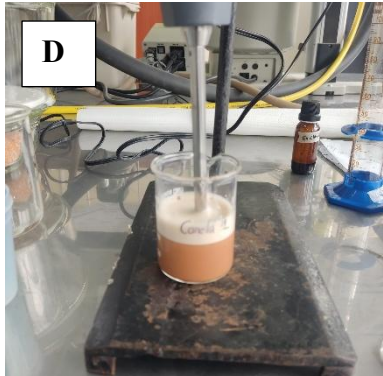
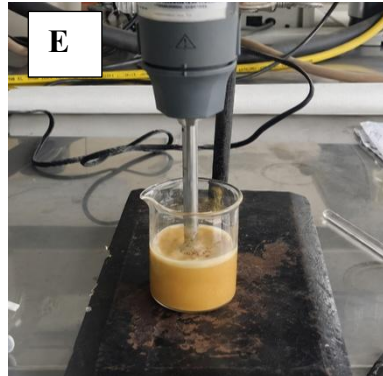
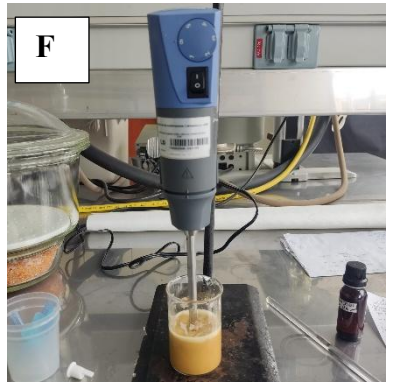
Anexo 9

Proceso de extracción Soxhlet de las muestras de canela y clavo

 A	 B
A.- Pesaje de la muestra	B.- Proceso Soxhlet
 C	 D
C.- Rota evaporación de la muestra	D.- Almacenamiento

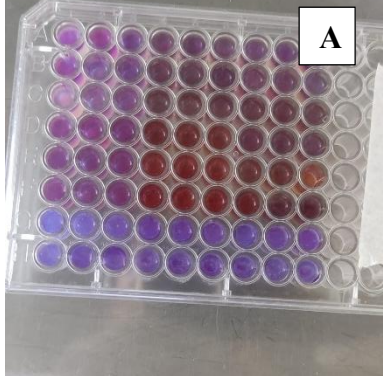
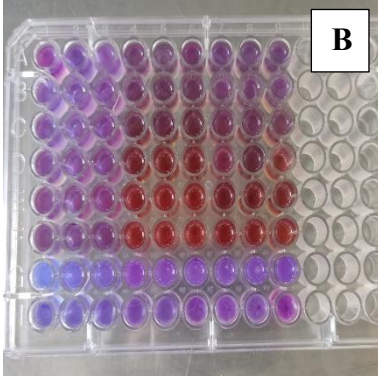
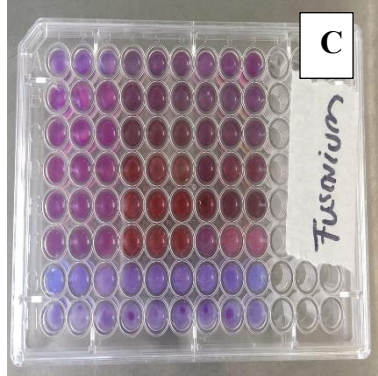
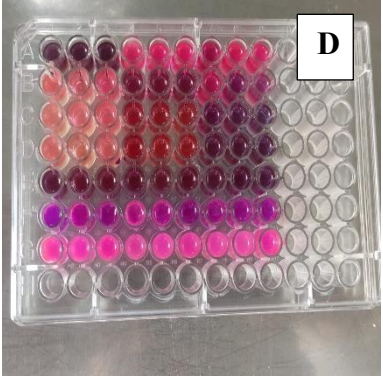
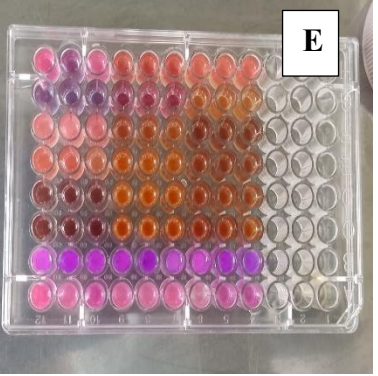
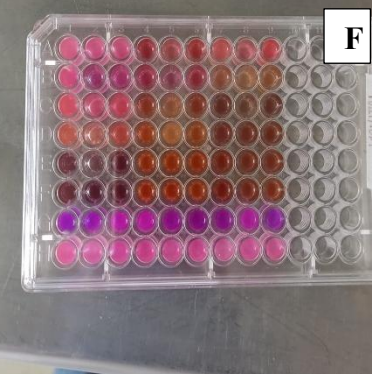
Anexo 10

Emulsiones de los extractos hidroalcohólicos y Soxhlet

		
A.- Emulsión canela (Extracto Etanólico)	B.- Emulsión clavo (Extracto Etanólico)	C.- Emulsión mixta (Extracto Etanólico)
		
D.- Emulsión canela (Extracto Metanólico)	E.- Emulsión clavo (Extracto Metanólico)	F.- Emulsión mixta (Extracto Metanólico)

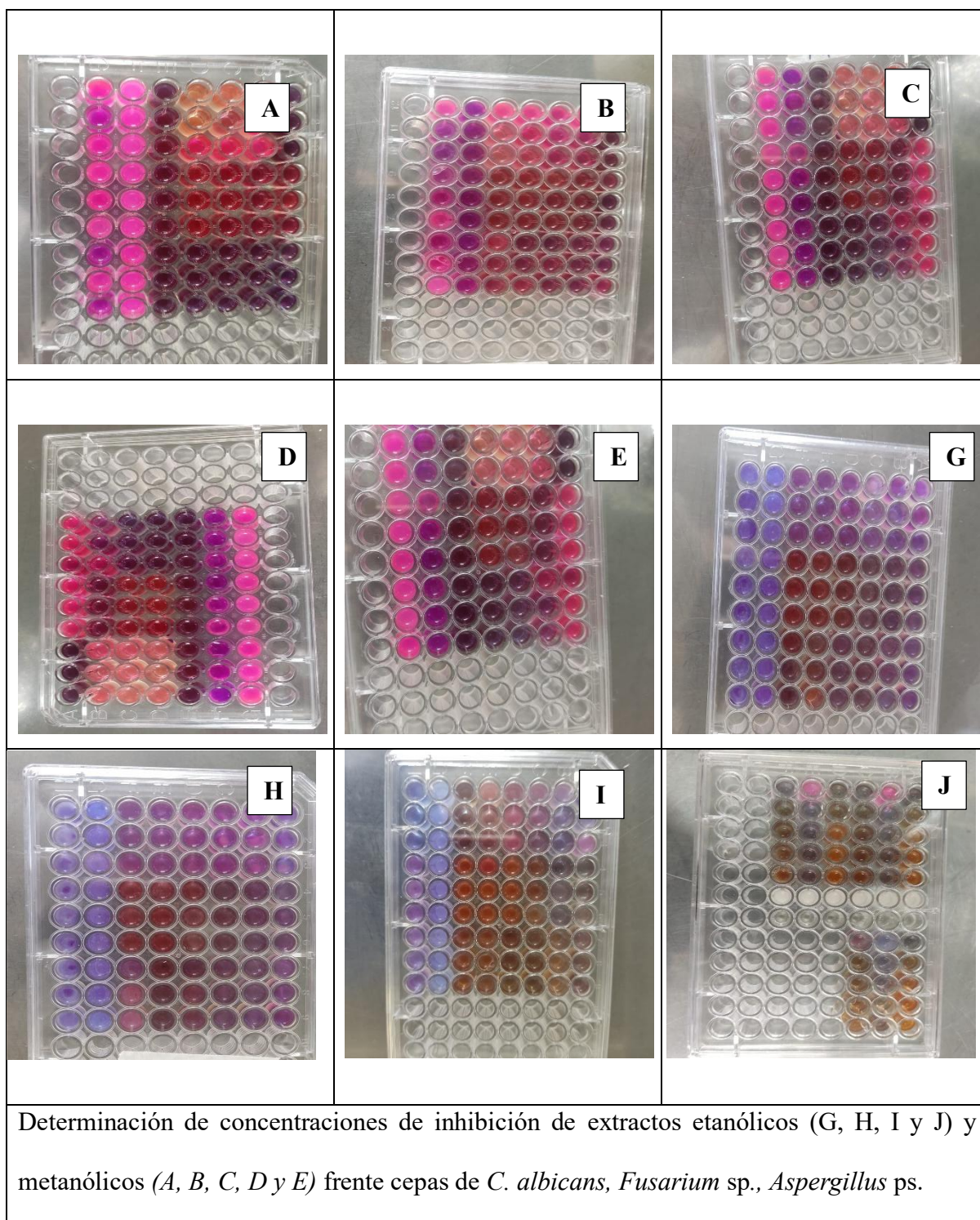
Anexo 11

Concentración mínima fúngica de los extractos de canela y clavo de olor

		
A.- Canela (Extracto Etanólico) vs <i>Candida albicans</i>	B.- Clavo (Extracto Etanólico) vs <i>Fusarium</i> sp.	C.- Mezcla (Extracto Etanólico) vs <i>Aspergillus</i> sp.
		
D.- Canela (Extracto Metanólico) vs <i>Candida albicans</i>.	E.- Clavo (Extracto Metanólico) vs <i>Fusarium</i> sp.	F.- Mixta (Extracto Metanólico) vs <i>Aspergillus</i> sp.

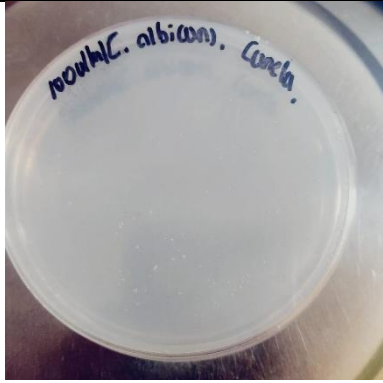
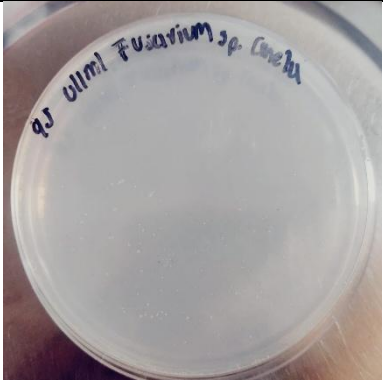
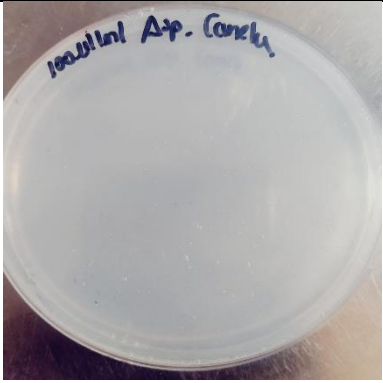
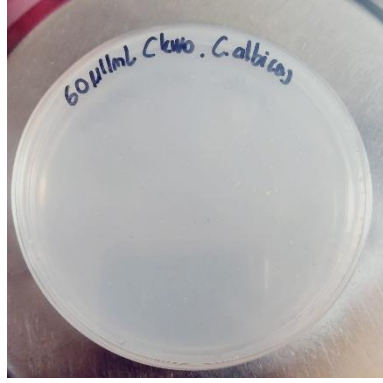
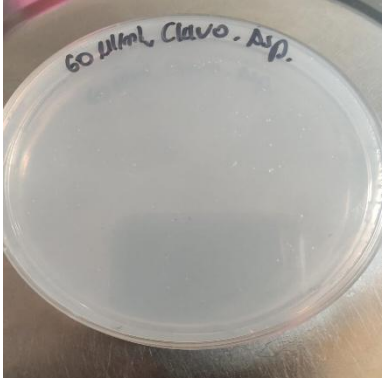
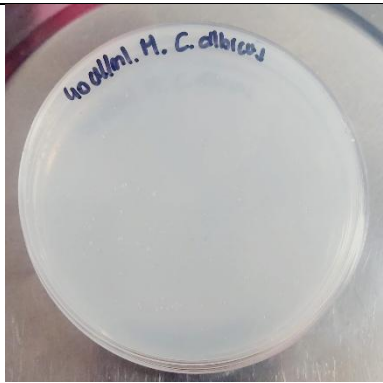
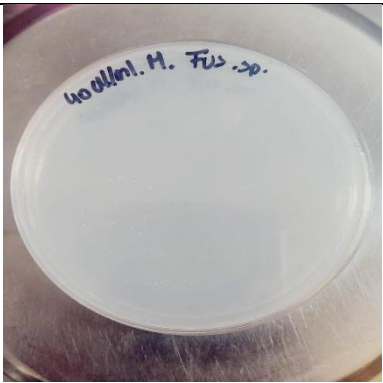
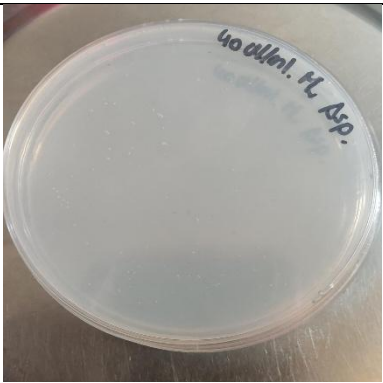
Anexo 12

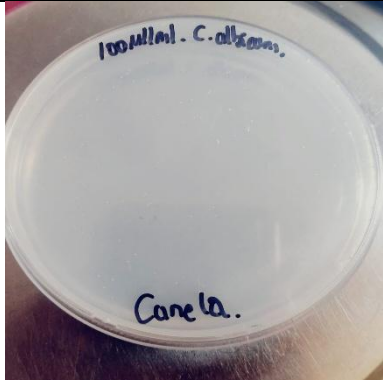
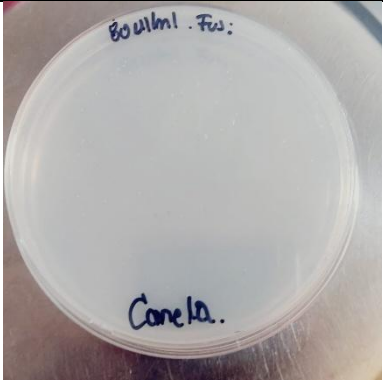
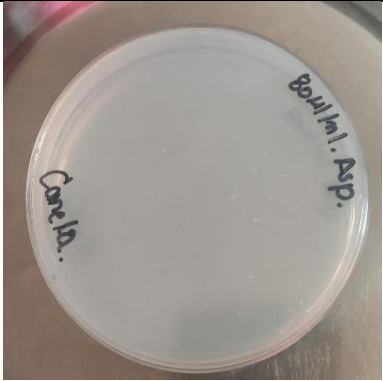
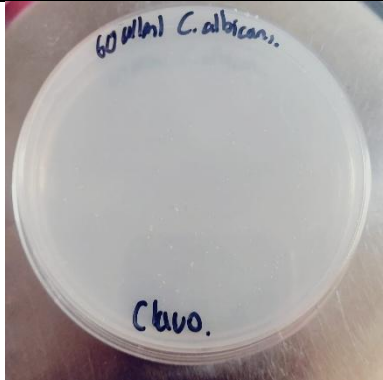
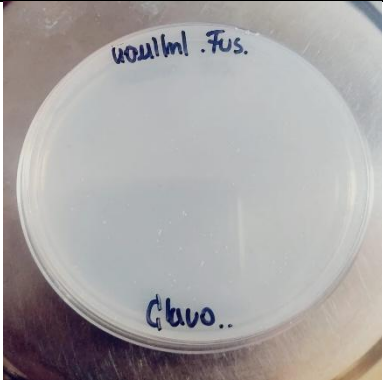
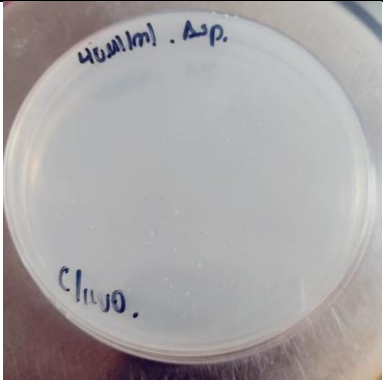
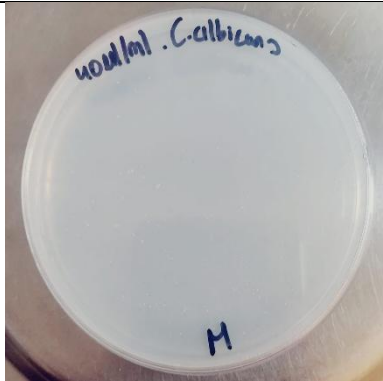
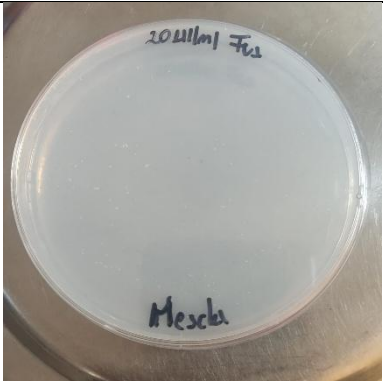
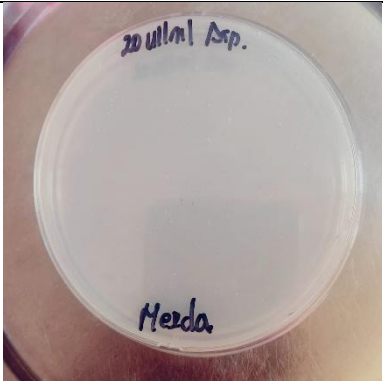
Preparación de diluciones de los extractos etanólicos y metanólicos.



Anexo 13

Concentración mínima fúngica de los extractos

Valores de la concentración mínima fúngica (CMF) de extractos etanólicos		
		
Canela- <i>Candida Albicans</i>	Canela- <i>Fusarium</i> sp.	Canela- <i>Aspergillus</i> sp.
		
Clavo- <i>Candida Albicans</i>	Clavo- <i>Fusarium</i> sp.	Clavo- <i>Aspergillus</i> sp.
		
Mezcla- <i>Candida Albicans</i>	Mezcla- <i>Fusarium</i> sp.	Clavo- <i>Aspergillus</i> sp.
Valores de la concentración mínima fúngica (CMF) de extractos metanólicos		

		
Canela- <i>Candida Albicans</i>	Canela- <i>Fusarium</i> sp.	Canela- <i>Aspergillus</i> sp.
		
Clavo- <i>Candida Albicans</i>	Clavo- <i>Fusarium</i> sp.	Clavo- <i>Aspergillus</i> sp.
		
Mezcla- <i>Candida Albicans</i>	Mezcla- <i>Fusarium</i> sp.	Mezcla- <i>Aspergillus</i> sp.