



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

**SEDE CUENCA**

**CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

“EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS  
ACEITES ESENCIALES DE *Schinus molle* (MOLLE) Y *Ocotea quixos* (ISHPINGO)

FRENTE A *Escherichia coli*”

Trabajo de titulación previo a la obtención del  
título de Ingeniera Biotecnóloga

AUTORA: JOHMAYRA THALÍA RAMÍREZ SALAZAR

TUTORA: DRA. MÓNICA JUDITH ESPADERO BERMEO

Cuenca - Ecuador

2026

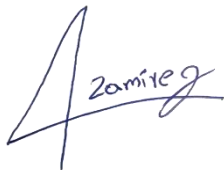
**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Yo, Johmayra Thalía Ramírez Salazar con documento de identificación N° 0150687325 manifiesto que:

Soy la autora responsable del presente trabajo; y autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 10 de febrero del 2026

Atentamente,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Johmayra Ramirez Salazar', written over a horizontal line.

Johmayra Thalía Ramírez Salazar

0150687325

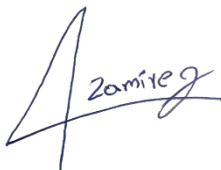
**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Johmayra Thalía Ramírez Salazar con documento de identificación N° 0150687325, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo experimental: “Evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) frente a *Escherichia coli*”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera Biotecnóloga, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 10 de febrero del 2026

Atentamente,



---

Johmayra Thalía Ramírez Salazar

0150687325

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Mónica Judith Espadero Bermeo con documento de identificación N° 0103645412, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaró que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “EVALUACIÓN *IN VITRO* DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS ACEITES ESENCIALES DE *Schinus molle* (MOLLE) Y *Ocotea quixos* (ISHPINGO) FRENTE A *Escherichia coli*”, realizado por Johmayra Thalía Ramírez Salazar con documento de identificación N° 0150687325, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 10 de febrero del 2026

Atentamente,



---

Dra. Mónica Judith Espadero Bermeo

0103645412

## **Agradecimientos**

Agradezco en primer lugar a Dios y a mi familia: a mi madre, Laurita; a mi padre Yofre; a mi abuelita, Pastorita; a mis hermana, Marlene y Gabriela; a mis primas, Mercy y Pastora; a mis sobrinos, Matías y Alan y a mis tíos, Olmedo, German y Raúl, por su apoyo constante, comprensión y motivación a lo largo de toda mi formación académica y durante el desarrollo de esta tesis, su confianza en mí me ha permitido llegar aquí.

Expreso mi más sincero agradecimiento a mi directora de tesis, Dr. Mónica Espadero, por su guía, acompañamiento, paciencia y por su valioso aporte durante la redacción de este trabajo.

Agradezco también a la Universidad Politécnica Salesiana y a los miembros del laboratorio de Ciencias de la vida: Sandy, Marlon y Tatiana, por su paciencia y por brindarme los recursos, el espacio y el apoyo técnico necesarios para el desarrollo experimental de esta investigación.

Agradezco a mis amigos Merly, Lis, Andrea, Angy, Fanny, Jorge N, Daniel, Francisco, Juan, Jeramel, Sofía, Mayerly, extendiendo este sentimiento todos a mis compañeros, debido a que su apoyo y acompañamiento me ha permitido ser una mejor persona en estos años de carrera.

Finalmente, extendiendo mi agradecimiento a mis docentes quienes de una u otra forma contribuyeron con su apoyo académico y humano durante este largo proceso. Gracias por su paciencia.

## **Dedicatoria**

Dedico esta tesis a mi abuelita, quien siempre confió en mi capacidad intelectual y emocional. También dedico esta tesis al resto de mi familia y a mis mascotas, por ser mi principal fuente de inspiración y fortaleza, y por acompañarme incondicionalmente en cada etapa de mi vida.

Asimismo, dedico este trabajo a todas las personas que creen en la ciencia y en la biotecnología como herramientas para el desarrollo, la innovación y el bienestar de la sociedad.

## Contenido

Resumen:.....	14
Abstract:.....	15
Capítulo I .....	16
1. Introducción .....	16
1.1 Planteamiento del problema.....	17
1.2 Pregunta de investigación .....	18
1.3 Limitaciones.....	19
1.4 Justificación de la investigación .....	19
1.5 Objetivos .....	21
1.5.1 Objetivo general:.....	21
1.5.2 Objetivos específicos: .....	21
1.6 Hipótesis .....	22
Capítulo II .....	23
2. Marco de referencia .....	23
2.1. Antecedentes de investigación.....	23
2.2 Marco conceptual.....	25
2.3 Bases Teóricas .....	26
2.3.1 Descripción botánica de las especies vegetales .....	26
2.3.2 Aceites esenciales .....	31
2.3.3 <i>Escherichia coli</i> .....	36

2.3.4 Metodologías de evaluación de la actividad antimicrobiana .....	40
Capítulo III.....	43
3 Marco Metodológico.....	44
3.1 Tipo y nivel de investigación.....	44
3.2 Diseño de investigación .....	44
3.3 Diseño de experimental.....	44
3.4 Unidad experimental.....	45
3.5 Población y Muestra .....	46
3.6 Variables .....	46
3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	47
3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos .....	47
3.9. Procedimientos.....	47
3.9.1 Fase 1. Obtención de aceites esenciales de <i>Schinus molle</i> (molle) y <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo).....	48
3.9.2 Fase 2. Reactivación de cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 .....	48
3.9.3 Fase 3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria .....	49
3.9.3 Fase 4. Inhibición de las biopelículas .....	55
3.9.4 Bioautografía.....	58
Capítulo IV.....	61
4. Resultados y discusiones.....	61
4.1 Determinación de la concentración mínima inhibitoria.....	61

4.1.1 Determinación de la CMI del aceite de <i>Schinus molle</i> (molle) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 mediante el método de microdilución en microplaca.....	61
4.1.2 Determinación de la CMI del aceite de <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 mediante el método de microdilución en microplaca.....	64
4.1.3 Análisis de diferencia.....	67
4.2 Inhibición de las biopelículas.....	68
4.2.1 Inhibición de la biopelícula de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 con <i>Schinus molle</i> (molle).....	68
4.2.2 Inhibición de biopelículas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 con <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo) .....	70
4.2.3 Análisis de diferencia del efecto de los aceites esenciales evaluados sobre las biopelículas .....	72
4.3 Bioautografía.....	73
4.3.1 Detección de compuestos con capacidades antimicrobianas del aceite esencial de <i>Schinus molle</i> (molle) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, mediante el ensayo de bioautografía. ....	73
4.3.2 Detección de compuestos con capacidades antimicrobianas del aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, mediante el ensayo de bioautografía. ....	78
Capítulo V .....	84
5. Conclusiones y recomendaciones .....	84
5.1 Conclusiones .....	84
5.2 Recomendaciones: .....	85

Referencias.....	87
Apéndices y anexos.....	105

## Índice de tablas

Tabla 1 Clasificación taxonómica de <i>Schinus molle</i> L. (molle).....	27
Tabla 2 Clasificación taxonómica de <i>Ocotea quixos</i> (Lam.) Kosterm .....	30
Tabla 3 Esquema de tratamientos para la evaluación de la actividad antimicrobiana.....	45
Tabla 4 Tabla de variables independientes .....	46
Tabla 5 Tabla de variables dependientes .....	46
Tabla 6 Resumen de concentraciones de aceite empleadas .....	51
Tabla 7 Reactivos para revelado de la cromatografía.....	58
Tabla 8 Tabla de concentración mínima inhibitoria del aceite de <i>Schinus molle</i> (molle) frente a <i>E. coli</i> .....	62
Tabla 9 Porcentajes de inhibición del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones del AE de <i>Schinus molle</i> (molle).....	63
Tabla 10 Tabla de resultados para la CMI del aceite de <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo).....	65
Tabla 11 Porcentajes de inhibición del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones del AE <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo).....	66
Tabla 12 Porcentajes de inhibición del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones del AE <i>Schinus molle</i> (molle).....	69
Tabla 13 Porcentajes de inhibición del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones del AE <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo).....	70
Tabla 14 Posibles metabolitos secundarios del aceite esencial de <i>Schinus molle</i> con actividad antibacteriana .....	73

Tabla 15 Posibles metabolitos secundarios del aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo) con actividad antibacteriana .....	79
---	----

## Índice de Figuras

Figura 1 <i>Schinus molle</i> (molle).....	26
Figura 2 <i>Ocotea quixos</i> (Lam.) Kosterm (ishpingo).....	29
Figura 3 <i>Escherichia coli</i> . ....	37
Figura 4 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 en agar McConkey .....	48
Figura 5 Distribución de la microplaca para ver la inhibición del crecimiento bacteriano. ....	54
Figura 6 Procedimiento ejecutado en la metodología para determinar la Concentración mínima inhibitoria (CMI).....	54
Figura 7 Distribución de la microplaca para evaluar inhibición de la biopelícula. ....	57
Figura 8 Procedimiento ejecutado en la metodología para determinar el porcentaje de inhibición de la biopelícula.....	57
Figura 9 Procedimiento ejecutado en la metodología de bioautografía.....	60
Figura 10 Microplaca con tratamientos de <i>Schinus molle</i> (molle) y TTC luego de una hora de incubación. ....	61
Figura 11 Curva dosis- respuesta del efecto de <i>Schinus molle</i> (molle).....	63
Figura 12 Microplaca de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 con tratamiento y TTC luego de una hora de incubación. ....	64
Figura 13 Curva dosis-respuesta del efecto de <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo).....	66
Figura 14 Comparación visual del porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano. ....	67
Ilustración 15 Representación gráfica del porcentaje de inhibición de la biopelícula bacteriana .....	69
Figura 16 Representación gráfica del porcentaje de inhibición de la biopelícula bacteriana. .	71

Figura 17 Comparación visual del porcentaje de inhibición de la biopelícula. ....	72
Figura 18 Cromatografía TLC de Schinus molle (molle) a 254nm. ....	75
Figura 19 Cromatografía TLC de Schinus molle (molle) a 366nm. ....	76
Figura 20 Cromatografía TLC de Schinus molle (molle) revelada con vainillina y ácido sulfúrico. ....	77
Figura 21 Bioautografía de Schinus molle revelada con MTT. ....	77
Figura 22 Cromatografía TLC de Ocotea quixos (ishpingo) a 254nm. ....	81
Figura 23 Cromatografía TLC de Ocotea quixos (ishpingo) a 366nm. ....	82
Figura 24 Cromatografía TLC de Ocotea quixos (ishpingo) a 366nm luego de ser revelado con ácido sulfúrico. ....	83

## **Abreviaturas**

AE: Aceite esencial

ATCC: American Type Culture Collection

DMSO: dimetilsulfóxido

MTT: Bromuro de 3-(4,5 dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio.

MIC: Concentración mínima inhibitoria.

TLC: Thin Layer Chromatography (Cromatografía de capa fina)

TTC: Cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio.

TWEEN 80: Polisorbato 80.

Rf: Frente de referencia.

## Resumen:

Hoy en día el uso de plantas ha incrementado debido al interés en los compuestos bioactivos que estas poseen y a la búsqueda de alternativas naturales en la industria. En este marco, especies como *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) destacan por su contenido de metabolitos secundarios con reportada actividad terapéutica, antimicrobiana y antiinflamatoria. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), la evaluación del porcentaje de inhibición de la biopelícula mediante el ensayo con cristal violeta y la identificación de los posibles metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana.

De esta forma, la concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó mediante el método de microdilución en caldo. El aceite esencial de *Schinus molle* (molle) presentó una CMI de 1000 µg/mL, en cambio el aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) exhibió una CMI de 4000 µg/mL. Ambos aceites inhibieron la formación de biopelículas bacterianas a concentraciones subinhibitorias, destacando *Schinus molle* (molle) con porcentajes de inhibición superiores al 57.7%.

Mediante bioautografía acoplada a cromatografía de capa fina y el cálculo de los frentes de referencia (Rf), se identificó los posibles metabolitos con actividad inhibitoria; en el aceite esencial de *Schinus molle* (molle), se identificó compuestos como felandreno (Rf: 0.25), beta-cariofileno (Rf: 0.45-0.52) y limoneno (Rf: 0.57). En cambio, en el aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) se identificó los posibles metabolitos con efecto inhibitor, siendo estos el  $\alpha$ -trans-bergamoteno (Rf: 0.18), 1,8-cineol (Rf: 0.35), metoxicinamaldehído (Rf: 0.4) y acetato de cinamilo (Rf: 0.54).

*Palabras clave:* CMI, biopelículas, bioautografía.

**Abstract:**

Today, the use of plants has increased due to interest in their bioactive compounds and the search for natural alternatives in industry. Within this context, species such as *Schinus molle* (molle) and *Ocotea quixos* (ishpingo) stand out for their content of secondary metabolites with reported therapeutic, antimicrobial, and anti-inflammatory activity. This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of the essential oils of *Schinus molle* (molle) and *Ocotea quixos* (ishpingo) against *Escherichia coli* ATCC 25922 by determining the minimum inhibitory concentration (MIC), evaluating the percentage of biofilm inhibition using the crystal violet assay, and identifying the possible secondary metabolites responsible for the antimicrobial activity.

The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using the broth microdilution method. The essential oil of *Schinus molle* (molle) showed an MIC of 1000  $\mu\text{g/mL}$ , while the essential oil of *Ocotea quixos* (ishpingo) exhibited a (CMI) of 4000  $\mu\text{g/mL}$ . Both oils inhibited bacterial biofilm formation at subinhibitory concentrations, with *Schinus molle* (molle) standing out with inhibition percentages exceeding 57.7%. Using bioautography coupled to thin-layer chromatography and the calculation of reference fronts (Rf), the potential metabolites with inhibitory activity were identified; in the essential oil of *Schinus molle* (molle), compounds such as phellandrene (Rf: 0.25), beta-caryophyllene (Rf: 0.45-0.52), and limonene (Rf: 0.57) were identified. In contrast, in the essential oil of *Ocotea quixos* (ishpingo) the possible metabolites with inhibitory effect were identified, these being  $\alpha$ -trans-bergamotene (Rf: 0.18), 1,8 cineole (Rf: 0.35), methoxycinnamaldehyde (Rf: 0.4) and cinnamyl acetate (Rf: 0.54).

Keywords: MIC, biofilm, bioautography.

## Capítulo I

### 1. Introducción

Las plantas han sido utilizadas a lo largo de la historia de la humanidad, con fines medicinales, culinarios y cosméticos. En la medicina tradicional, las partes más empleadas son los tallos, hojas, raíces, a partir de las cuales se obtienen compuestos bioactivos mediante diversos procesos de extracción. Entre estos compuestos, los más destacados son los extractos y aceites esenciales, en los que se concentran los metabolitos de diversas actividades biológicas como antimicrobianos, antioxidantes, fungicidas, larvicidas y antitumorales. Actualmente, se ha propuesto a los aceites esenciales como una alternativa a compuestos sintéticos y como una estrategia en el desarrollo progresivo de nuevos antimicrobianos frente a microorganismos patógenos resistentes a antibióticos convencionales (Wińska et al., 2019).

Se considera que los AE son metabolitos secundarios lipófilos sintetizados en las plantas y son de naturaleza aromática debido a la mezcla de distintas sustancias químicas, entre las que se incluyen terpenos, fenilpropanoides, fenoles, esteroides y éteres, entre otros (Mirković et al., 2025).

Por otro lado, *Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa, cuyas cepas mayoritariamente son comensales inocuas; sin embargo, algunas variantes patógenas pueden causar enfermedades graves como diarrea, síndrome hemolítico e incluso la muerte (Biblioteca Nacional de Medicina, 2025) En este contexto, la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 constituye un microorganismo de referencia al ser ampliamente utilizado en estudios microbiológicos y ensayos de actividad antimicrobiana, debido a su estabilidad genética, comportamiento reproducible y uso estandarizado como cepa control en evaluaciones in vitro.

Las familias botánicas que se reconocen por producir alta diversidad y volumen de aceites esenciales incluyen Lamiaceae, Rutaceae, Myrtaceae, Lauraceae, Zingiberaceae y

Anacardiaceae. Estas plantas contribuyen significativamente a la producción comercial de aceites esenciales debido a sus propiedades aromáticas) (Weiss, 1996). En este contexto, especies como *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) emergen como fuentes prometedoras de compuestos bioactivos. El primero, rico en terpenos como el  $\alpha$ -felandreno, limoneno y  $\beta$ - mirceno y el segundo caracterizado por su alto contenido de acetato de cinamilo,  $\beta$  cariofileno y cinamaldehído, han demostrado actividad antibacteriana en estudios preliminares (Belloumi et al., 2025; Muñoz, 2024).

En el presente estudio, se evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de los aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, con el propósito de determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI), el porcentaje inhibición de la biopelícula y la identificación de sus metabolitos secundarios, comparando la eficiencia de ambos aceites. También, se buscó validar científicamente el potencial antimicrobiano de estos productos, contribuyendo al conocimiento de alternativas naturales frente a los tratamientos con antibióticos, sentando bases para posibles aplicaciones farmacéuticas o en el desarrollo de productos de desinfección y conservación.

## 1.1 Planteamiento del problema

En Ecuador el uso de productos naturales con fines terapéuticos es una práctica ancestral arraigada, respaldada por la Constitución de 2008 que promueve su integración en el sistema de salud. No obstante, el Ministerio de Salud Pública (MSP) y la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) exigen que estos productos cuenten con evidencia técnica, científica y buenas prácticas de manufactura para garantizar su calidad y seguridad. La falta de validación científica de muchos recursos empíricos representa una brecha para su regulación y uso responsable, a pesar de la amplia biodiversidad del país.

(Agencia Nacional de Regulación, 2016; Ministerio de Salud Pública del Ecuador, 2020; Romero et al., 2022).

Ecuador se distingue por su elevada diversidad botánica, al albergar entre 60 y 80 familias de plantas productoras de aceites esenciales utilizadas en la medicina tradicional. No obstante, la evidencia científica es limitada sobre la actividad biológica de muchas especies sigue siendo limitada, particularmente en relación con su actividad frente a microorganismos de importancia sanitaria (Montalván, Malagón, Cumbicus, Tanitana, & Gilardoni, 2023). En particular, especies nativas como *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) constituyen ejemplos de este potencial subutilizado, por consiguiente, se requieren estudios adicionales que validen su eficacia y que, a su vez, permitan su posible aplicación en los sectores farmacéutico, alimentario y cosmético.

Por otra parte, diversas bacterias patógenas continúan siendo responsables de un elevado número de enfermedades infecciosas en humanos. Se estima que aproximadamente cien especies bacterianas están implicadas en estas afecciones a nivel mundial (Li & Liu, 2019). Entre ellas, *Escherichia coli* destaca por su relevancia sanitaria, al tratarse de una enterobacteria presente en el tracto intestinal de animales y humanos, y cuyo desequilibrio en la microbiota se ha asociado principalmente a enfermedades gastrointestinales. En este contexto, se estima que cada año se registran 220 millones de casos de diarrea relacionados con cepas enterotoxigénicas de *E. coli*, lo que subraya la importancia de evaluar alternativas de origen natural que permitan explorar su actividad frente a este tipo de microorganismo (Chakraborty et al., 2024).

## **1.2 Pregunta de investigación**

¿Influye significativamente el tipo de aceite esencial empleado (*Schinus molle* y *Ocotea quixos*) en la actividad bacteriana de *E. coli*?

### 1.3 Limitaciones

Acceso limitado a modelos celulares tales como líneas celulares de mamíferos para la evaluación de la citotoxicidad, la necesidad de reactivación periódica de cepas bacterianas y la constante manipulación incrementaron el riesgo de contaminación cruzada, a pesar de seguir estrictas medidas de bioseguridad. Además, el diseño experimental se vio limitado por la disponibilidad de tiempo, especialmente debido a feriados nacionales que dificultaron repetir ensayos que presentaron variabilidad inesperada.

### 1.4 Justificación de la investigación

Ecuador es un país considerado como megadiverso, se estima que alberga un 10% de las plantas vasculares del planeta, de las cuales 2900 especies se consideran como plantas medicinales (Armijos et al., 2021; Rendón et al., 2021). No obstante, muchas de esas plantas no han sido estudiadas por métodos científicos lo cual evita o dificulta que éstas sean aprovechadas por la industria.

En este escenario, es necesario investigar los beneficios de las plantas endémicas o nativas que Ecuador puede brindar, como *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo), cuyas propiedades medicinales no han sido evaluadas completamente. Debido a la escasez de estudios acerca de sus potenciales propiedades.

*Schinus molle* (molle) o también conocido como árbol de pimienta peruana. Es una especie nativa de Sudamérica que incluye a Ecuador como parte de su área de distribución, junto con Perú, Chile, Bolivia y Argentina (Camacho et al., 2022). En la medicina tradicional se le atribuyen propiedades tónicas, antiespasmódicas. En ciertas zonas de Perú ha sido empleado como droga vegetal, y se le ha atribuido actividad hipotensora y antibacteriana en medicina veterinaria, en otros lugares se le ha atribuido propiedades contra la gonorrea (Rodríguez-Díaz & Rebolledo, 2022). Se ha visto que el aceite esencial de esta planta es rico

en  $\beta$ -mirreno,  $\alpha$ -felandreno,  $\beta$ -pineno y  $\alpha$ - pineno, compuestos que se han relacionado con actividad antibacteriana (Ruiz Quiroz et al., 2021).

*Ocotea quixos* o ishpingo o canela del Amazonas, es una especie nativa y originaria del amazonas ecuatoriano y colombiano, pertenece a la familia Lauraceae a la cual pertenece la canela, especie botánica que ha sido ampliamente estudiada e investigada por su actividad antimicrobiana. El aceite de ishpingo es rico en trans-cinamaldehído, metil-cinamato, eucaliptol, cariofileno, humuleno, metil cinamato (Muñoz, 2024).

En el ámbito microbiológico y sanitario, *Escherichia coli* constituye uno de los microorganismos de mayor importancia, debido a su amplia distribución en el tracto intestinal de humanos y animales, así como su frecuente implicación en enfermedades gastrointestinales. A nivel global, *Escherichia coli* se reconoce como uno de los principales agentes etiológicos de enfermedades diarreicas, lo que la convierte en un microorganismo clave para estudios microbiológicos y sanitarios. En este panorama podemos decir que esta investigación es de importancia contemporánea ya que actualmente se buscan alternativas de bajo costo y derivadas de recursos naturales renovables que cuenten con actividad antimicrobiana con potencial uso en la industria. La relevancia de este proyecto se basa en usar la cepa de referencia *Escherichia coli* ATCC 25922, ya que este microorganismo se emplea como estándar en pruebas de antimicrobianos, por ello los resultados serán reproducibles por otros investigadores.

Se busca validar el conocimiento local sobre dos plantas relevantes de la flora andina y amazónica, cerrando la brecha entre el saber ancestral y la validación científica, de esta forma generar datos prácticos para la industria. Los beneficiarios directos serán la Universidad Politécnica Salesiana, que obtendrá datos validados, así como futuros investigadores que usarán estos resultados como punto de partida. Indirectamente, se

beneficiarán la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria, que dispondrán de nuevos datos para el desarrollo de productos naturales y seguros, y la sociedad ecuatoriana, al ver validado científicamente su patrimonio biocultural y abrirse la puerta al desarrollo sostenible de sus recursos naturales.

## 1.5 Objetivos

### 1.5.1 Objetivo general:

Evaluar la actividad inhibitoria *in vitro* de los aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) frente a *Escherichia coli* para su uso como potenciales agentes antimicrobianos.

### 1.5.2 Objetivos específicos:

- Determinar *in vitro* la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo), mediante la técnica de microdilución en microplaca para la comparación de su actividad antimicrobiana.
- Evaluar el porcentaje de inhibición de biopelículas de *Escherichia coli* frente a los aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo), mediante el ensayo de tinción con cristal violeta para la comparación de su efecto sobre la inhibición de biopelículas.
- Identificar mediante cromatografía en capa fina (TLC) y bioautografía los metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) responsables de la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli*.

## 1.6 Hipótesis

El tipo de aceite esencial utilizado *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) influye significativamente en la actividad inhibitoria *in vitro* frente a *E. coli*.

## Capítulo II

### 2. Marco de referencia

#### 2.1. Antecedentes de investigación

La evidencia científica disponible sobre la actividad antimicrobiana de extractos y aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo), en cuanto a lo que representa su concentración mínima inhibitoria (CMI) y su capacidad para combatir biopelículas bacterianas, sigue siendo limitada. No obstante, los estudios existentes sobre las familias botánicas, géneros y tipos de extractos sugieren un potencial prometedor que justifica una investigación más profunda. Cabe destacar que la evidencia reportada varía significativamente según factores como el órgano de origen vegetal, el método de procesamiento y la composición química de los extractos y aceites.

En concreto, para *Schinus molle* (molle), se ha reportado que el aceite de hojas secas presenta mayor actividad inhibitoria (CMI de 31,25  $\mu\text{g/mL}$ ) que el de hojas frescas contra la especie bacteriana *Xanthomonas citri* (da Silva et al., 2024). Asimismo, extractos de sus semillas y hojas han mostrado una CMI de 62. 5  $\mu\text{g/mL}$  frente a *Bacillus cereus* y *Klebsiella pneumoniae*, y de 125  $\mu\text{g/mL}$  para *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, para otras cepas bacterianas gramnegativas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, la actividad inhibitoria directa de estos extractos suele ser menor (CMI de 500  $\mu\text{g/mL}$ ), lo que subraya una limitación frente a ciertos patógenos (Shehata et al., 2025).

Dada la limitación de la actividad directa, una estrategia de gran interés es el uso de estos compuestos como potenciales antimicrobianos. Si bien la evidencia de *Schinus molle* (molle) es escasa, investigaciones en especies del mismo género proporcionaron un antecedente conceptual sólido. En este contexto, el estudio de (Costa da Silva et al., 2023) en

*Schinus terebinthifolius*, demostró una CMI relevante ( $\geq 1024 \mu\text{g/mL}$ ), logró potenciar significativamente la acción de antibióticos como la gentamicina y la norfloxacinina contra cepas multirresistentes de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Este hallazgo sugiere que el potencial antimicrobiano del género *Schinus* podría residir no solo en su actividad inhibitoria directa, sino también en su capacidad de superar mecanismos de resistencia bacteriana cuando se usan en combinación.

Cabe recalcar que, la composición química, determinada por quimiotipo, se confirma como un factor crítico. Aceites ricos en monoterpenos como felandreno, mirceno y limoneno, han mostrado actividades inhibitorias más potentes, con un CMI bajas como  $2 \mu\text{g/mL}$  contra *Bacillus cereus*, ( $32.5 \mu\text{g/mL}$ ) contra *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella enteritidis*, ( $65 \mu\text{g/mL}$ ) en *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* (Oses et al., 2025).

Por otro lado, los aceites esenciales de *Ocotea quixos* (ishpingo) ha demostrado excelente actividad antibacteriana, aunque con una gran variabilidad en sus valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) dependiendo de la cepa bacteriana, y crucialmente de la parte vegetal empleada para la extracción. Por ejemplo, se ha reportado una actividad muy potente contra *Streptococcus mutans*, con una CMI de  $0.8 \mu\text{L/mL}$  (Ormaza Pinos & Parra Román, 2024). En contraste, para bacterias Gram negativas como *Escherichia coli*, la CMI varía significativamente: mientras (Vanegas et al., 2021), reportaron 1,68% v/v, estudios con el aceite extraído específicamente de la corteza determinaron una CMI notablemente más alta de  $13.08 \text{ mg/mL}$  contra *Escherichia coli* ATCC 25922 (Herrera & Villegas, 2017; Noriega et al., 2018). Esta marcada diferencia subraya, una vez más, que la eficacia antimicrobiana está intrínsecamente ligada a la composición química del extracto, la cual varía según la parte de la planta procesada.

## 2.2 Marco conceptual

Aceite esencial: Son extractos aromáticos conformados por compuestos bioactivos, son resultado del metabolismo secundario de las plantas aromáticas, se obtienen por métodos como la destilación o compresión (Adeyemo et al., 2022).

Cepa ATCC: Las colecciones microbianas ATCC son cepas de referencia depositadas y certificadas por la American Type Culture Collection una organización de reconocimiento internacional, estas cepas se emplean como estándares en investigaciones científicas (López, 2025).

CMI: La concentración mínima inhibitoria es el método para determinar la susceptibilidad de un microorganismo frente a un antimicrobiano (como los antibióticos), estas pruebas están regidas bajo estrictas directrices del Comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad a los antimicrobianos (EUCAST) o del Instituto de Normas Clínicas y de laboratorio (CLSI). Los ensayos de CMI nos sirven para determinar la concentración más baja de un agente antimicrobiano que se requiere para inhibir el crecimiento visible mediante pruebas *in vitro* (Kadeřábková et al., 2024).

Porcentaje de inhibición de la biopelícula: Se refiere a la medida de cómo una sustancia o condición reduce la formación o crecimiento de la biopelícula, se calcula como la porción de una biomasa en comparación con un control.

Bioautografía: Es un método de referencia para la detección de compuestos bioactivos, en extractos complejos mediante el revelado de fracciones que tienen actividad biológica (Wang et al., 2021).

## 2.3 Bases Teóricas

### 2.3.1 Descripción botánica de las especies vegetales

Las especies de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) son especies nativas de Sudamérica, su área de distribución abarca países como Ecuador, Perú, Chile, Argentina, actualmente son especies valoradas por las comunidades indígenas (Logroño, 2021; Medina et al., 2021).

#### 2.3.1.1 *Schinus molle* L. (molle)

*Schinus molle* (molle) es un árbol perenne originario de los andes sudamericanos, perteneciente a la familia Anacardiaceae. Conocido comúnmente como “falso pimentero”, “molle”, “pirol” o “aguaribay”. Esta especie se ha naturalizado en otros continentes como África y Europa (Chagnoleau et al., 2025; Ramos & Ramos, 2024). Su importancia radica en su excepcional adaptabilidad y en amplia gama de usos tradicionales y científicos, en la actualidad es objeto de investigación por su riqueza en compuestos bioactivos, con aplicaciones potenciales en la farmacología, agroindustria y cosmética (Cadena et al., 2025; Oses et al., 2025).

#### Figura 1

*Schinus molle* (molle).



Fuente: (Universidad de la Islas Baleares, s. f.)

### 2.3.1.1.1 Clasificación taxonómica de *Schinus molle* (molle)

**Tabla 1.**

*Clasificación taxonómica de Schinus molle L. (molle)*

<b>Nombre científico</b>	<i>Schinus molle</i> L
<b>Nombre vulgar</b>	Molle
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Antophyta (Angiospermae)
<b>Clase:</b>	Dicotiledóneas
<b>Subclase:</b>	Arquiclamídeas
<b>Orden:</b>	Sapindales
<b>Familia:</b>	Anacardiaceae
<b>Género:</b>	<i>Schinus</i>
<b>Especie:</b>	<i>Schinus molle</i>

Fuente: (Huaraca, 2024).

### 2.3.1.1.2 Características botánicas

*Schinus molle* (molle) es un árbol perenne de porte mediano a grande, que alcanza entre 3 y 15 metros de altura. Presenta una corteza fisurada de color marrón oscuro, laticífera

y fisurada. Sus hojas son compuestas e imparipinnadas, con un raquis claramente alado y entre 20-40 folios por hoja. Estos folios son de forma linear-lanceolada, miden entre 2-5cm de largo por 0.4-0.8 cm de ancho y su margen puede ser entero o dentado (Machado et al., 2019). La inflorescencia se presenta en racimos panículas con flores pequeñas unisexuales de color blanco-amarillento. El fruto es una drupa ovoide con un endocarpio delgado rojizo. Las semillas son marrones o negras y redondas con un diámetro de 2-4mm (Huaraca, 2024).

#### **2.3.1.1.3 Características químicas**

La composición química del aceite esencial de *Schinus molle* (molle), está constituida por una mezcla de compuestos volátiles, englobando tanto monoterpenos como sesquiterpenos. Ejemplos representativos de estos constituyentes son:  $\alpha$ - y  $\beta$ - felandreno, pineno, canfeno, limoneno, mirceno, cimeno, germacreno, cadineno, elemol, cubenol, cadinol (Abderrahim et al., 2018; Murrieta-Dionicio et al., 2023).

En un estudio realizado por (Mariani et al., 2025), se observó que el aceite esencial proveniente de la hidrodestilación por arrastre de vapor de las hojas presentaba una composición volátil en la que cuatro componentes mayoritarios (pineno, elemol, limoneno y  $\alpha$ -felandreno) representaban en conjunto un 52.2% del perfil químico total. Dentro de estos, el pineno demostró poseer una notable capacidad antioxidante cuantificable mediante métodos indirectos como la captación de radicales libres (ensayo DPPH) así como en sistemas lipídicos.

#### **2.3.1.1.4 Usos medicinales**

A la especie *Schinus molle* (molle) se le ha atribuido diversas propiedades dentro de la medicina tradicional, entre ellas efectos antibacterianos, antifúngicos, astringentes, analgésicos, antivirales, antipiréticos, purgantes, cicatrizantes. Además, se ha utilizado comúnmente para tratar el dolor dental (Lalangui & Palacios, 2021).

El estudio realizado por (Oses et al., 2025) en donde se exploró el potencial bioactivo del aceite esencial de las semillas de *Schinus molle* (molle) se vio que este presenta una actividad antioxidante moderada en el estudio con radicales libres, una fuerte acción antibacteriana contra *Bacillus cereus* y *Salmonella spp*, y una notable capacidad antiproliferativa selectiva contra células tumorales de mama (MCF7) a bajas concentraciones modulando proteínas clave como BCL-2, P53 y RB; también presentó baja toxicidad en modelos *in vivo* de *Caenorhabditis elegans* y un perfil farmacocinético favorable *in silico*, posicionándolo como un candidato prometedor para el desarrollo de agentes terapéuticos naturales en oncología, desarrollo de antibióticos, productos cosméticos y veterinarios.

### 2.3.1.2 *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.

*Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm. es una especie aromática nativa de la amazonia ecuatoriana, esta especie pertenece a la familia Lauraceae. Es conocida comúnmente como “ishpingo” o “canela amazónica” y tiende a crecer entre los 310 y 1250 msnm, se desarrolla principalmente en climas húmedos tropicales (Logroño, 2021).

#### Figura 2

*Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm (ishpingo).



Fuente: (Noriega et al., 2008)

### 2.3.1.2.1 Clasificación taxonómica

**Tabla 2**

*Clasificación taxonómica de Ocotea quixos (Lam.) Kosterm*

<b>Nombre científico</b>	<i>Ocotea quixos</i> (Lam.) Kosterm.
<b>Nombre vulgar</b>	Ishpik, ishpingo, canela amazónica.
<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida
<b>Orden:</b>	Lurales
<b>Familia:</b>	Lauraceae
<b>Género:</b>	<i>Ocotea</i>
<b>Especie:</b>	<i>Ocotea quixos</i>

Fuente: (Chango, 2018).

### 2.3.1.2.2 Características botánicas

*Ocotea quixos* (ishpingo) es un árbol perenne cuya altura promedios varía entre los 3 y 6 metros, aunque puede alcanzar una altura de 25m y 80cm de diámetro en el tronco. Esta especie que alcanza la madurez reproductiva alrededor de los seis años y presenta un ciclo fenológico bienal, es decir, florece y fructifica cada dos años.

Presenta hojas de tipo lauráceo, de color verde oscuro en el haz con una longitud aproximada de 15cm. Las flores son pequeñas de color blanco-verdoso, con estambres tipo

ligulado y un cáliz persistente compuesto por seis sépalos. Los frutos son de color amarillo-verde, miden aproximadamente 5cm de longitud (Noriega, 2016; Valarezo et al., 2021).

#### **2.3.1.2.3 Características químicas**

La composición química del aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) es variada, siendo compuestos como los fenilpropanoides (97.4%) los más abundantes tales como el transmetilcinamato (43,60%) y el transcinamaldehído (37,70%) (Ortiz et al., 2018). En otros estudios se han encontrado otros componentes como el metil cinamato, trans-cariofileno, 1,8-cineol,  $\alpha$ -terpineol, sabinano,  $\alpha$ -pineno, p-cimeno, E-cariofileno, terpinen-4-ol (Montalván et al., 2023; Radice et al., 2019).

#### **2.3.1.2.4 Usos medicinales**

La especie *Ocotea quixos* (ishpingo) se ha utilizado principalmente por propiedades aromáticas. Aunque también se le considera anestésico, analgésico, antiinflamatorio, antifúngico, larvicida, antiespasmódico, antidiabético, antitrombótico, relajante muscular y repelente (Barbosa et al., 2026).

Además, se ha evaluado su capacidad como antiviral, en el estudio de (Radice et al., 2019) se observó como *Ocotea quixos* (ishpingo) tuvo actividad contra la replicación del virus del Nilo occidental en cultivos celulares con una efectividad media (EC50) de 372  $\mu\text{g/mL}$  y un índice de selectividad de 2.2. La evidencia también indica que, el aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) es efectivo contra la bacteria *Streptococcus mutans* (Ormaza Pinos & Parra Román, 2024).

#### **2.3.2 Aceites esenciales**

Los aceites esenciales (AE) son mezclas complejas, volátiles y lipofílicas, principalmente conformados por monoterpenos y sesquiterpenos. Los monoterpenos, como limoneno y linalol, son responsables del aroma característico, mientras que a los

sesquiterpenos suelen conferirles actividad biológica como efectos antimicrobianos, antiinflamatoria y antitumorales. Su composición química, y por lo tanto su aroma y eficacia no es fija, sino que varía significativamente según los factores como la especie de la planta, órgano de origen, condiciones ambientales, método de extracción y almacenamiento (Thangaleela et al., 2022).

### **2.3.2.1 Hidrodestilación para la obtención de aceites esenciales**

La hidrodestilación es un método tradicional para la extracción de aceites esenciales, en este método no se utilizan disolventes orgánicos y en ciertos casos es necesario un tratamiento previo del material vegetal como la deshidratación. Existen tres tipos de hidrodestilación: destilación de agua, destilación de agua-vapor y destilación por corriente de vapor (Oreopoulou et al., 2019).

La principal diferencia de estos tipos de hidrodestilación está en la disposición del material vegetal y del agua. En la destilación con agua el material vegetal se halla completamente sumergido, el vapor se produce dentro del mismo recipiente de destilación. En cambio, en la destilación con agua y vapor, el vapor se genera dentro del mismo recipiente en donde se encuentra el material vegetal y el solvente, pero estos no están en contacto directo, en esta técnica suele colocarse la materia prima en cestas para evitar el contacto con el agua (Casado, 2018).

Finalmente, en la destilación por arrastre con vapor, la materia prima y el agua no tienen contacto, el vapor es generado externamente en otro recipiente y se inyecta en el recipiente que contiene la materia vegetal. Por su eficiencia y capacidad para obtener aceites con mayor calidad a nivel industrial se suele preferir el tercer método (Casado, 2018).

### **2.3.2.2 Mecanismos generales de acción antimicrobiana de los aceites esenciales**

Los aceites esenciales ejercen actividad antimicrobiana debido a que son la mezcla de varios componentes como terpenos, fenoles, aldehídos, cetonas, alcoholes, ésteres que se han probado por separado y han demostrado que tienen actividad antimicrobiana, por lo tanto, la actividad final de un aceite esencial resulta de interacciones complejas en los distintos compuestos (Tariq et al., 2019).

Los métodos microbiológicos usados para evaluar la actividad antimicrobiana de los metabolitos secundarios presentes en extractos y aceites esenciales de las plantas son variados. Entre los métodos más utilizados se encuentran las técnicas de difusión en agar, como la difusión en disco y en pozo, que permite identificar la presencia o ausencia de inhibición mediante la formación de halos de inhibición. De igual forma se usan métodos de dilución en caldo, especialmente la microdilución en microplaca son ampliamente utilizados para determinar parámetros cuantitativos como la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). De forma complementaria, se emplean ensayos de viabilidad celular y métodos para la evaluación de la inhibición de la biopelícula, tales como el ensayo de cristal violeta, los cuales permiten una caracterización más integral de potencial en los metabolitos secundarios (Balouiri et al., 2016; Hossain, 2024).

#### **2.3.2.2.1 Efecto de los aceites esenciales sobre las biopelículas microbianas**

Las biopelículas son comunidades estructuradas de microorganismos, como bacterias, que se adhieren a superficie formando matrices poliméricas extracelulares (EPS) que los protegen de condiciones adversas. Según estudios realizados por (Iskanda et al., 2025), Diversos aceites esenciales pueden actuar como agentes antibiopelículas en bacterias Gram negativas y Gram positivas. Su mecanismo de acción es dual, por un lado, alteran las propiedades de la superficie celular, impidiendo la adhesión bacteriana inicial; por otro,

modulan vía de señalización intracelular clave, como las mediadas por CAMP y c-di-CMP que controlan la formación de la biopelícula como de la producción de factores de virulencia.

#### **2.3.2.2.2 Modulación de la actividad de detección del quórum**

El “quórum sensing” (QS) es un mecanismo que regula la comunicación bacteriana basado en la densidad poblacional, que regula la virulencia y formación de biopelículas. El proceso implica autoinductores (AI) en bacterias Gram positivas, en cambio en Gram negativas emplea lactonas de acil-homoserina (AHL o AI-1), con ambos tipos se produce el autoinductor AI-2 (un furanosil borato diéster) que permite la comunicación con otras bacterias. Estudios *in vitro* han demostrado que los aceites esenciales pueden intervenir en la señal AHL-QS (Iskandar et al., 2025).

#### **2.3.2.2.3 Efecto de los aceites esenciales en la membrana plasmática y el material genético.**

La membrana plasmática bacteriana puede ser afectada por los AE debido a su naturaleza lipofílica la cual permite la integración de estos compuestos en la bicapa lipídica, alterando su fluidez, permeabilidad y función. Esta interrupción provoca un desequilibrio iónico (especialmente de  $H^+$  y  $K^+$ ), lo que daña la fuerza motriz de protones, conduce a la coagulación del citoplasma y reduce la síntesis de ATP. El daño culmina con la fuga masiva de contenido intracelular, incluidos iones, material genético y proteína, llevando a la muerte celular. Además, algunos componentes específicos pueden afectar a blancos intracelulares; por ejemplo, la carvona ha demostrado capacidad para dañar el ADN plasmídico (Roshni & Rekha, 2024).

#### **2.3.2.2.4 Actividad prooxidante y antioxidante**

Los AE poseen una dualidad química única que confiere tanto actividad prooxidante como antioxidante. Como prooxidantes (ejemplo, aceite de canela), inducen el estrés oxidativo en los patógenos al generar especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que provoca

peroxidación lipídica en la membrana, daño a proteínas y en el ADN. Paralelamente, en el huésped, su capacidad antioxidante les permite actuar como protectores celulares al neutralizar ROS, modular la respuesta inflamatoria y aumentar la actividad de enzimas como la catalasa y superóxido dismutasa, como se observa en el tomillo (Kong et al., 2022).

#### **2.3.2.2.5 Inhibición en los mecanismos de resistencia**

Los aceites esenciales contrarrestan los mecanismos de resistencia mediada por bombas de eflujo a través de múltiples mecanismos de acción. Estos incluyen la inhibición directa de la función de la bomba, ya sea bloqueando el canal de expulsión de antibióticos, o compitiendo con ellos por sitios de unión. También, pueden agotar la energía necesaria para el transporte activo, mediante el colapso del gradiente de protones en bombas secundarias como de las familias MFS (superfamilia de facilitadores mayores) o RND (superfamilia de resistencia-nodulación- división celular). Asimismo, estos compuestos pueden actuar como potenciadores de la actividad de antibióticos mediante sinergia, reduciendo significativamente la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los antibióticos y restableciendo así la sensibilidad de cepas bacterianas previamente resistentes (Agreles et al., 2021; Thidar et al., 2021).

#### **2.3.2.2.6 Factores que influyen en la actividad biológica de los aceites esenciales**

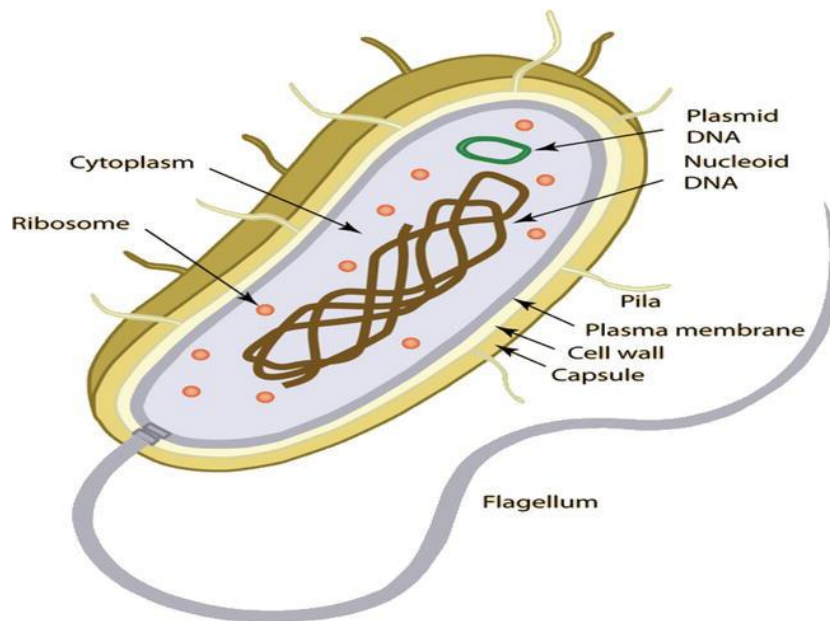
La actividad biológica de los aceites esenciales depende principalmente de su composición y de la cantidad de los componentes individuales, los cuales incluyen terpenos fenólicos como alcanfor, limoneno, eucaliptol, etc. Estos compuestos actúan de forma sinérgica para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos a través de mecanismos como la alteración de la permeabilidad de la membrana bacteriana, la interrupción de la producción de energía o la destrucción del material genético, además factores como el origen botánico, las condiciones ambientales pueden influir en esta composición química y, en consecuencia, la actividad biológica que estos presentan (Camiletti et al., 2014).

### 2.3.3 *Escherichia coli*

#### 2.3.3.1 Características de *Escherichia coli*

*Escherichia coli* es una enterobacteria Gram negativa que habitualmente habita el intestino de animales de sangre caliente, incluidos los seres humanos. Muchas de sus cepas son inofensivas, sin embargo, ciertas cepas patógenas pueden ser causa de enfermedades intestinales como infecciones enterotoxigénicas (ETEC), enterohemorrágicas (EHEC), enteropatógenas (EPEC), enteroinvasivas (EIEC), enteroagregativas (EAEC), así como otras afecciones extraintestinales que involucran el tracto urinario, neumonía, bacteriemia y peritonitis (Mueller et al., 2025).

Además, se ha visto que esta bacteria es capaz de persistir en varios nichos tanto en el medio ambiente como los huéspedes, aunque no produce esporas esta puede vivir durante periodos prolongados en heces, suelo y agua. La mayoría de las cepas de esta especie tiene movilidad gracias a la disposición flagelar peritricosa y una pared delgada con una o dos capas de peptidoglicano. *Escherichia coli* crece óptimamente a 37°C, pero puede proliferar en temperaturas altas como a los 49°C. Es considerada como un organismo modelo debido a que ha sido ampliamente estudiada y es considerada una especie de interés para la producción de ADN recombinante, manipulación de ADN y producción de proteínas (Basavaraju & Gunashree, 2022).

**Figura 3***Escherichia coli*.

**Fuente:** (Basavaraju & Gunashree, 2022).

### 2.3.3.2 Factores de virulencia de *Escherichia coli*

Los factores de virulencia de *Escherichia coli* patógena que la distinguen de *Escherichia coli* no patógena incluyen adhesinas como (fimbrias tipo 1, P y agregativas, e intimina) que permiten la unión a las células del hospedador; toxinas como Shiga en EHEC, y las enterotoxinas LT y ST en ETEC) que alteran los tejidos o la secreción intestinal. Los sistemas de secreción especializados que inyectan factores bacterianos (T3SS en EPEC/EHEC), sideróforos (como aerobactina) para captar hierro en ambientes hostiles y factores de evasión inmune como la cápsula K y proteínas de resistencia sérica. Muchos de estos factores están codificados en elementos genéticos móviles como los plásmidos que facilitan su dispersión horizontal y la aparición de cepas híbridas (HyPEC) con combinaciones atípicas de virulencia y resistencia a los antibióticos (Braz et al., 2020).

### **2.3.3.2.1 Biopelículas bacterianas**

Las biopelículas bacterianas están formadas por bacterias que conviven y se organizan en estructuras multicelulares encapsuladas dentro de una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), estas organizaciones no son simples organizaciones aleatorias sino ecosistemas microbianos altamente estructurados que favorecen a las bacterias frente a amenazas externas y condiciones adversas como la escasez de nutrientes, estrés osmótico y antibióticos (Ramírez & Eckhard, 2022).

Es importante destacar que los EPS están compuestos principalmente por polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos extracelulares, funcionan como una barrera protectora que limita la penetración de antibióticos y eliminación por parte del sistema inmune de huéspedes infectados (Gari et al., 2025).

#### **2.3.3.2.1.1. Ciclo de las biopelículas de *Escherichia coli***

Las biopelículas bacterianas atraviesan un ciclo de vida dinámico formado por cuatro fases principales que son la adhesión reversible, la adhesión irreversible y la etapa de desprendimiento y dispersión.

La primera fase de formación de biopelículas es la adhesión reversible, este proceso es donde las células planctónicas se unen de forma reversible a una superficie gracias a los flagelos las bacterias pueden superar los efectos de las fuerzas de repulsión (como las fuerzas hidrodinámicas y Van der Waals); en esta etapa, las bacterias aún son sensibles a los antibióticos (Ballén et al., 2022; Shree et al., 2023).

Cuando las bacterias han permanecido demasiado tiempo en una superficie y las condiciones ambientales son favorables inicia la adhesión irreversible, un proceso regulado que permite evaluar el entorno antes de formar la biopelícula, en esta etapa los

microorganismos comienzan a dividirse y reclutan a otras células, formando una microcolonias (Sauer et al., 2022).

En *Escherichia coli*, este proceso emplea tres estructuras clave: 1) Pili conjugativos, que facilitan la transferencia de genes y la agregación celular, 2) Fimbrias “curli”, estructuras amiloides para la agregación y adhesión. 3) Fimbrias tipo 1, su proteína FimH se une a la manosa en la superficie de las células. Adicionalmente, la proteína Ag43 permite la agregación bacteriana mediante un sistema de regulación On/Off controlado por factores redox (Ballén et al., 2022).

Cabe recalcar que en la etapa de adhesión irreversible es donde se comienza a formar la matriz de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) y en donde las bacterias trabajan juntas y se comunican a través de moléculas de señalización llamadas autoinductores, en un mecanismo conocido como “quorum sensing”, el cual responde a cambios en la densidad poblacional y promueve la expresión de genes específicos para el desarrollo temprano de la biopelícula (Hernández, 2025; Shree et al., 2023). Posteriormente se forma una matriz compuesta de EPS. A medida que la biopelícula madura adquiere una estructura tridimensional compleja y heterogénea con canales de agua que facilitan el intercambio de nutrientes y eliminación de desechos (Shree et al., 2023).

Finalmente, en la etapa de desprendimiento y dispersión, enzimas endógenas (como proteasas y DNAsas) degradan la matriz liberando grupos bacterianos o células individuales que pueden colonizar nuevas superficies y reiniciar el ciclo (Hernández, 2025; Shree et al., 2023).

### **2.3.3.3 *Escherichia coli* ATCC 25922**

La cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 es usada como estándar en controles de calidad, en controles negativos y como cepa control de CLSI en pruebas de susceptibilidad

microbiana, también se emplean en ensayos de sensibilidad a anticuerpos y productos de diagnóstico. Aunque esta cepa se considera como “no patógena” se ha visto que ciertos clones ST73 se han asociado con enfermedades de tracto urinario adquiridos de entornos comunitarios e intrahospitalarios (American Type Culture, 2024; Marchiani et al., 2021).

### **2.3.4 Metodologías de evaluación de la actividad antimicrobiana**

Las pruebas para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana son herramientas que permiten evaluar el potencial terapéutico de fármacos o compuestos de interés biológico. Bajo esta premisa, la actividad antimicrobiana de aceites esenciales y extractos vegetales ha sido evaluada tradicionalmente mediante diversos métodos *in vitro*, entre los que se incluyen la difusión en disco y la difusión en pozos en agar, ensayos de dilución en caldo. Estos métodos permiten estimar la capacidad inhibitoria de los compuestos bioactivos frente a microorganismos de interés, reportándose principalmente resultados como diámetros de inhibición (ID) o concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) (Silva et al., 2023).

Adicionalmente, técnicas como la bioautografía acoplada a cromatografía en capa fina permiten localizar fracciones específicas con actividad antimicrobiana facilitando la identificación preliminar de los metabolitos responsables de dicha actividad, mientras que ensayos de inhibición de biopelículas mediante técnicas como tinción con cristal violeta aportan información complementaria sobre la capacidad de los compuestos para interferir en procesos de adhesión y establecimiento bacteriano (Kalia et al., 2023; Kowalska & Sajewicz, 2022).

#### **2.3.4.1 Microdilución en microplaca**

El método de microdilución en microplaca es una técnica de laboratorio ampliamente utilizada para evaluar la actividad antimicrobiana de sustancias como aceites esenciales,

extractos vegetales o antibióticos, debido a su rapidez y porque permite analizar múltiples muestras de forma simultánea (Bona et al., 2014; Téllez Ramírez et al., 2019).

Esta técnica se basa en diluir de forma seriada la sustancia a probar, (en el caso de aceites esenciales se comúnmente se incluyen diluyentes como DMSO o TWEEN para facilitar la dispersión), en un medio de cultivo líquido en una placa de microtitulación (generalmente de 96 pocillos). Posteriormente, cada pocillo es inoculado con una cantidad estandarizada de inóculo microbiano e incubado para evaluar la presencia o ausencia de crecimiento bacteriano. Tras el periodo de incubación, se determina la concentración mínima inhibitoria (CMI), definida como la menor concentración capaz de inhibir el crecimiento bacteriano. Esta puede evaluarse de manera visual mediante la observación de turbidez, medición de la absorbancia o mediante el uso de indicadores redox como resazurina, sales de tetrazolio (INT, MTT, TTC) o fenol rojo, los cuales cambian de color en presencia de células metabólicamente activas (Oses et al., 2025; Tao et al., 2022).

#### **2.3.4.2 Inhibición de la formación de biopelículas**

La técnica de cristal violeta constituye un método colorimétrico estandarizado para la evaluación cuantitativa de biopelículas microbianas que son estructuras organizadas de microorganismos adheridos a una matriz extracelular polimérica que confiere resistencia a agentes antimicrobianos y desinfectantes. Esta metodología se fundamenta en la capacidad del colorante catiónico cristal violeta para unirse a componentes cargados negativamente de la matriz extracelular como polisacáridos y ácidos nucleicos (Arzmi et al., 2023; Miller, 2025).

Esta técnica implica la incubación de microorganismos en placas de microtitulación, seguido de la fijación de la biopelícula con alcoholes, y posterior tinción con soluciones de cristal violeta (0.1-0.3%) y lavados para eliminar el exceso de colorante, finalmente la

solubilización del complejo biopelícula-colorante con solventes polares como ácido acético glacial o etanol para su posterior cuantificación mediante espectrofotometría a 590nm-630nm. Esta técnica permite evaluar tanto la inhibición de la formación inicial de la biopelícula (actividad preventiva) como la destrucción de biopelículas preformadas (actividad erradicativa) (Kamimura et al., 2022; Thongjuy et al., 2025).

#### **2.3.4.3 Bioautografía**

La bioautografía en microbiología es un método analítico que integra la cromatografía de capa fina (TLC) con ensayos biológicos para detectar compuestos bioactivos con potencial antimicrobiano, directamente en la placa cromatográfica. Permite la separación de mezclas complejas y la evaluación de su actividad biológica *in situ* (Ramallo et al., 2025).

El procedimiento inicia con la separación de los componentes sobre una placa de TLC, utilizando una fase móvil apropiada. Una vez desarrollado el cromatograma, la placa se somete a un bioensayo en el que se aplican organismos de prueba, generalmente bacterias, con el fin de detectar zonas con actividad antimicrobiana (Jesionek et al., 2015; Móricz & Ott, 2015).

Cabe recalcar, que el ensayo biológico puede realizarse de tres formas, mediante bioautografía por contacto o difusión en agar, bioautografía directa y bioautografía por inmersión. La primera técnica involucra poner en contacto placa con un agar inoculado. En el segundo caso la placa se rocía o sumerge en una suspensión bacteriana. Finalmente, en la bioautografía por inmersión, se cubre la placa con agar fundido e inoculado. Para visualizar los resultados, especialmente en métodos directo y por inmersión, se emplean con frecuencia sales de tetrazolio (como MTT, INT o TZC). Estas sales son incoloras, pero las deshidrogenasas de los microorganismos reducen a derivados de formazan, produciendo un color púrpura, azul o rojo. Las zonas en donde se encuentran los compuestos bioactivos inhiben el crecimiento o la

actividad metabólica microbiana, apareciendo como manchas o halos sobre un fondo coloreado (Dewanjee et al., 2015; Wang et al., 2021).

### **Capítulo III**

### **3 Marco Metodológico**

#### **3.1 Tipo y nivel de investigación**

El nivel de investigación es descriptivo-comparativo, porque busca identificar *in vitro* la menor concentración de un agente antimicrobiano, en este caso utilizando aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) capaz de inhibir el crecimiento visible de *Escherichia coli* ATCC 25922. Esta determinación se la realizó mediante la técnica de microdilución en microplaca permitiendo cuantificar la actividad antimicrobiana de cada aceite esencial.

Asimismo, el enfoque comparativo busca la evaluación y contraste del porcentaje de inhibición de biopelícula formada por *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a los aceites esenciales de estudio, utilizando ensayos de tinción con cristal violeta.

#### **3.2 Diseño de investigación**

Se empleó un diseño experimental *in vitro* con un enfoque cuantitativo. El estudio se basó en la manipulación controlada de la variable independiente, el aceite esencial, (*Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo)), para medir su efecto sobre las variables dependientes, relacionadas con la inhibición del crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* ATCC 25922, bajo el control de las condiciones de incubación. Este estudio se realizó con la medición precisa de variables dependientes y con un diseño de corte transversal.

#### **3.3 Diseño de experimental**

Se planteó un diseño experimental *in vitro* para evaluar el efecto de diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) y su posible actividad antimicrobiana sobre la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, evaluando la CMI y el porcentaje de inhibición de las biopelículas.

Para ello se hicieron tres replicas con sus respectivos controles positivos y negativos.

Unidad experimental: pozo individual de microplaca de 96 pocillos (bacteria + control + aceites).

Resultados: mediante gráficos y tablas.

Niveles: 6

**Tabla 3**

*Esquema de tratamientos para la evaluación de la actividad antimicrobiana*

Tratamiento	Factor de entrada	Salida
1	A1 + B	CMI, % inhibición de biopelícula
2	A2 + B	CMI, % inhibición de biopelícula
3 (CP)	B	0
4 (CS)	B (crecimiento bacteriano)	0
5 (CN)	Caldo puro	0
6 (CA)	Antibiótico + Bacteria	0

*Nota.* A1: Aceite esencial de *Schinus molle* (molle), A2: Aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo), S: Solvente, B: Bacteria, CS: Control Solvente, CN: Control negativo, CMI: Concentración mínima inhibitoria. CA: control antibiótico. Fuente: Autora (2026).

### 3.4 Unidad experimental

Las unidades experimentales fueron 24, debido a que se trabajó con 8 tratamientos y 3 réplicas.

### 3.5 Población y Muestra

Los aceites esenciales caracterizados por GC/MS y con sus respectivas fichas técnicas se consiguieron de la empresa Aromavida ® y el proyecto Chankuap.

El aceite esencial de *Schinus molle* (molle) previamente caracterizado por GC/ MS fue obtenido por la empresa AROMAVIDA® con su respectiva ficha técnica (Anexos A, B, C), de igual manera el aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) previamente caracterizado por GC/MS fue adquirido a través de fundación Chankuap con su respectiva ficha técnica (Anexo D y E). La población de investigación fue la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 se adquirió de los laboratorios Microbiolab.

### 3.6 Variables

**Tabla 4**

*Tabla de variables independientes*

Variable	Dimensiones	Indicadores
Tipo de aceite esencial	Especie vegetal	-Aceite esencial de <i>Schinus molle</i> (molle) -Aceite esencial de <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo)

Fuente: Autora (2026)

**Tabla 5**

*Tabla de variables dependientes*

Variable	Dimensiones	Indicadores
- Inhibición de la actividad microbiana	Efecto inhibitorio	Concentración mínima inhibitoria

Fuente: Autora (2026).

### 3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de datos del CMI y del porcentaje de inhibición de la formación de las biopelículas se utilizó microplacas transparentes de 96 pocillos a los cuales se les leyó la absorbancia haciendo uso de un lector de microplacas, durante la identificación de metabolitos secundarios se empleó cromatografía en capa fina y bioautografía. Finalmente, en la recolección bibliográfica se realizó mediante revisiones en artículos científicos, libros y bases de datos, los cuales se citaron y referenciaron con Mendeley según las normas APA séptima edición.

### 3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

La tabulación de datos del CMI y porcentaje de inhibición de la biopelícula se realizó en tablas de Excel para mayor organización y comprensión al interpretar los datos, y los análisis se llevaron a cabo por medio de estadística descriptiva.

### 3.9. Procedimientos

El procedimiento experimental se realizó en cinco fases en el siguiente orden: Obtención de aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo), obtención y reactivación de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), determinación del porcentaje de inhibición de la

biopelícula mediante el método de cristal violeta y evaluación de metabolitos con potencial antimicrobiano mediante bioautografía.

### **3.9.1 Fase 1. Obtención de aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo)**

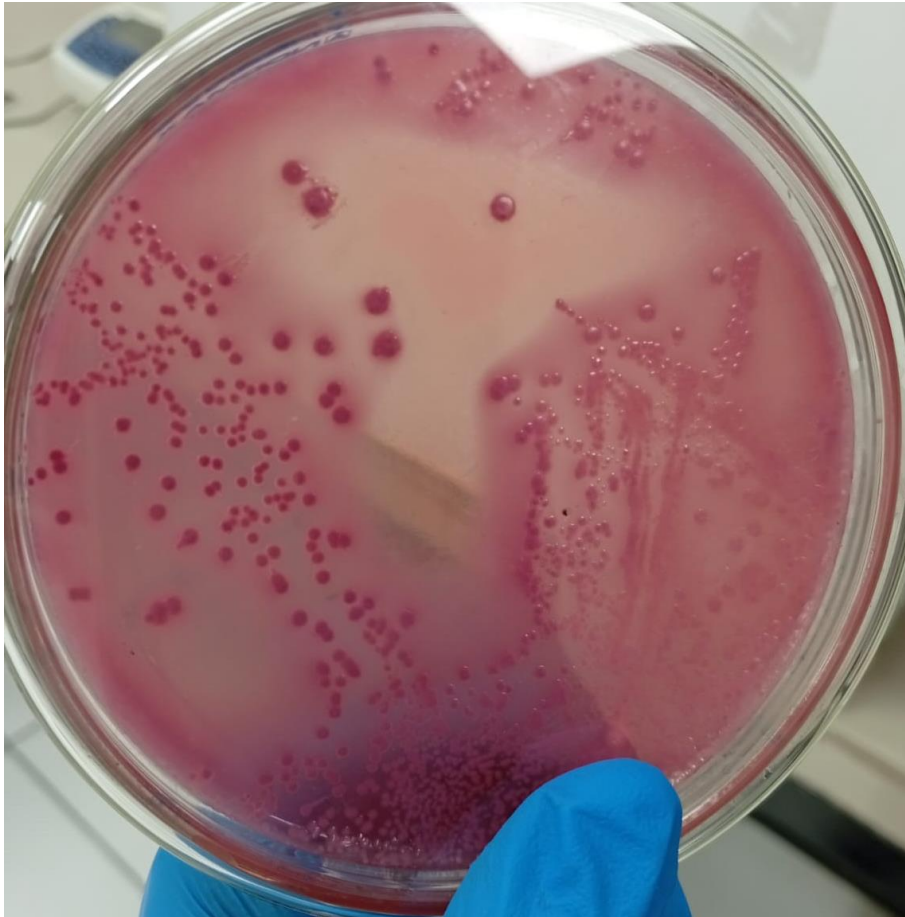
Se obtuvo el aceite esencial de *Schinus molle* (molle) de la empresa Aromavida ® y el aceite de *Ocotea quixos* (ishpingo) del proyecto Chankuap, las empresas entregaron las fichas técnicas de los aceites esenciales con información sobre la densidad relativa de cada aceite, sus metabolitos secundarios y pureza.

### **3.9.2 Fase 2. Reactivación de cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922**

Para llevar a cabo este proyecto, la cepa de estudio se reactivó en caldo cerebro-corazón (BHI), posteriormente se resembró por técnica de agotamiento en estría en Agar MacConkey, y se dejó incubar durante las 18-24 horas previas a la realización de cada una de las pruebas.

#### **Figura 4**

*Escherichia coli* ATCC 25922 en agar MacConkey



*Nota.* El Agar MacConkey es un medio específico para bacilos Gram negativos. Fuente: Autora (2026).

### **3.9.3 Fase 3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria**

#### **3.9.3.1. Medios de cultivo:**

En el ensayo de determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se prepararon 100mL de caldo Mueller-Hinton (MH) y 100 mL de caldo Mueller-Hinton suplementado con Tween 80 al 0.2% (v/v).

Para la preparación del caldo MH suplementado, se elaboró previamente una solución de Tween 80 al 10% (v/v), diluyendo 1mL de Tween puro en 9mL de agua destilada, la cual se agitó hasta su completa homogenización. El Tween 80 es no termoestable, por lo tanto,

para su esterilización no se empleó el autoclave; en cambio, la solución fue esterilizada mediante un filtro de jeringa de 0.22  $\mu\text{m}$ . Posteriormente, se tomaron 2mL de la solución de Tween 80 al 10%, y se adicionaron a 98 mL de caldo Mueller- Hinton tibio, obteniéndose una concentración final de Tween 80 al 0.2% (v/v).

### 3.9.3.2 Inóculo:

Se tomaron de 5 a 6 colonias jóvenes (18-24 horas de crecimiento) de agar McConkey con un asa estéril y se pusieron en solución salina. La suspensión se ajustó a una turbidez equivalente al estándar de 0.5 McFarland (aproximadamente 0.08-0.1 de absorbancia a 630nm), lo que corresponde a una concentración estimada de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL. Posteriormente, se tomó una alícuota de este inóculo y se diluyó en caldo MH sin Tween para alcanzar una concentración final de  $5 \times 10^5$  UFC/mL en los pozos de la microplaca.

### 3.9.3.3 Preparación de la solución madre y tratamientos:

Se calculó con la densidad promedio de las densidades relativas de los aceites esenciales que las empresas proporcionaron en la ficha técnica. Para el aceite de *Schinus molle* (molle), la densidad promedio fue de  $0.865 \approx 0.87$  g/mL, al igual que la de *Ocotea quixos* (ishpingo) (Anexos A y D).

Por lo tanto, 1 $\mu\text{L}$  de aceite esencial de molle o ishpingo equivale a 870  $\mu\text{g}$ . Para preparar 2mL de una solución madre de 16 000  $\mu\text{g/mL}$  de aceites esenciales, se aplicó la fórmula:

#### Formula 1

*Formula usada para calcular las concentraciones*

$$V_{\text{aceite}} = \frac{C \left( \frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times V_t (2\text{mL})}{\rho \left( \frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) \times 1000},$$

Donde:

$C = 16\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$  (concentración deseada),

$V_t = 2\text{mL}$  (volumen total)

$\rho = 870\ \frac{\mu\text{g}}{\mu\text{L}}$ .

*Nota.* Fuente: Autora (2026).

El volumen necesario de los aceites aceite fue de 36.8  $\mu\text{L}$ . Este volumen se mezcló con 36.8  $\mu\text{L}$  de DMSO puro para facilitar la dispersión del aceite y se ajustó a un volumen final de 2mL con caldo Mueller-Hinton estéril suplementado con 0.2% v/v de Tween 80.

**Tabla 6**

*Resumen de concentraciones de aceite empleadas*

	Aceite esencial de <i>Schinus molle</i> (molle) y <i>Ocotea quixos</i> (ishpingo)
Densidad	0.870 g/mL
Concentración final una solución para 16 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$	36.8 $\mu\text{L}$ de aceite + 36.8 $\mu\text{L}$ DMSO 99.99% + 1926 $\mu\text{L}$ de caldo Mueller-Hinton.
Concentración final en el primer pozo de la microplaca	4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de aceite esencial.

Fuente: Autora (2026).

Para las disoluciones seriadas en la microplaca se adaptó el protocolo de (Andrews, 2001), para ello se distribuyeron 100  $\mu\text{L}$  de caldo MH con Tween 80 0.2 (v/v) en los pozos de la fila 1-8. Luego se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de la solución madre en el primer pozo y se realizaron disoluciones seriadas 1:2 hasta el pozo 8. Finalmente, se añadieron 100  $\mu\text{L}$  de caldo con inóculo ajustado a  $1 \times 10^6$  UFC/mL a cada pozo. De esta forma, se obtuvieron las siguientes concentraciones finales de los aceites en los pozos: 4000  $\mu\text{g/mL}$ , 2000  $\mu\text{g/mL}$ , 1000  $\mu\text{g/mL}$ , 500  $\mu\text{g/mL}$ , 250  $\mu\text{g/mL}$ , 125  $\mu\text{g/mL}$ , 62.5  $\mu\text{g/mL}$ , 31.25  $\mu\text{g/mL}$ , se dejó incubar a 37°C durante 24 horas, y se leyó en un lector de microplacas a 630nm. Para calcular el porcentaje de inhibición del crecimiento se empleó la siguiente fórmula.

El porcentaje de inhibición se calcula con la fórmula propuesta por (Muhammad et al., s. f.)

### **Formula 2**

*Fórmula para calcula porcentaje de inhibición del crecimiento*

$$\% \text{Inhibición } DO_{630} = \left[ 1 - \frac{(DO \text{ muestra} - DO \text{ blanco})}{(DO \text{ control positivo} - DO \text{ blanco})} \right] \times 100$$

*Nota.* Se definió que hubo inhibición si el porcentaje  $\geq 90$ . Fuente: (Muhammad et al., s. f.).

Para una evaluación visual, en cada pocillo se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de una mezcla de TTC (60mg/mL) con Triton X-100 al 0.1%, se incubó durante una hora, posteriormente se evaluaron los pozos que presentaron cambio en su coloración (Orellana, 2025).

### 3.9.3.3 Controles del ensayo de CMI:

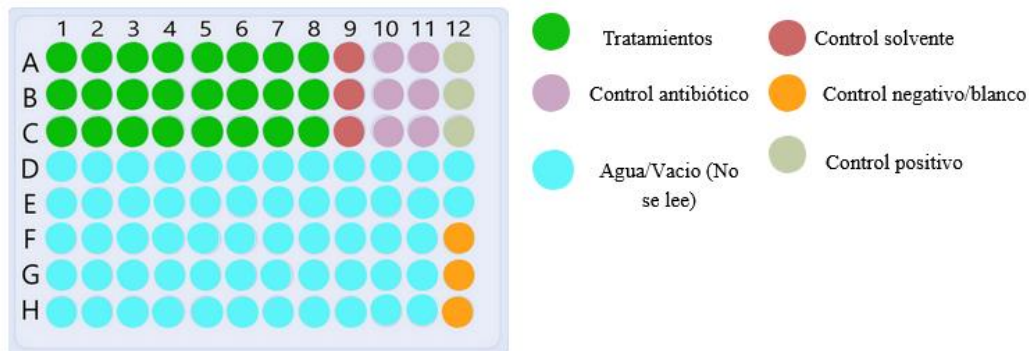
Se incluyeron los siguientes controles en el ensayo; positivo (inóculo bacteriano), negativo (esterilidad del medio), de solvente (DMSO), y de antibiótico (ciprofloxacino), preparados de la siguiente manera:

1. Control antibiótico (ciprofloxacino): Se obtuvo partiendo de una solución madre de 128 µg/mL, obtenida al disolver una cápsula de 500mg en 50mL de agua destilada y esterilizada con un microfiltro de (0.22µm), de esta se tomó una alícuota para obtener 1mL de solución de trabajo en caldo MH suplementado con Tween 80 al 0.2%. De esta se realizaron seis disoluciones seriadas en las columnas 10 y 11 de la microplaca, alcanzando, una concentración de 2µg/mL en el último pozo.
2. Control solvente (DMSO): Consistió en una disolución de 36.8 µL de DMSO al 99.99% en 1963 µL de caldo MH suplementado con Tween 80 al 0.2% para evaluar el efecto del vehículo.
3. Control negativo (esterilidad): Contenía una mezcla de 100 µL de caldo MH suplementado con Tween 80 al 0.2% y 100 µL de caldo MH sin Tween 80.
4. Control positivo (crecimiento): Contenía 100 µL de caldo MH suplementado con Tween 80 y 100 µL de una suspensión bacteriano de  $1 \times 10^6$  UFC/mL.

La distribución de las diferentes concentraciones como de los controles se puede ver representada en la Figura 5

**Figura 5**

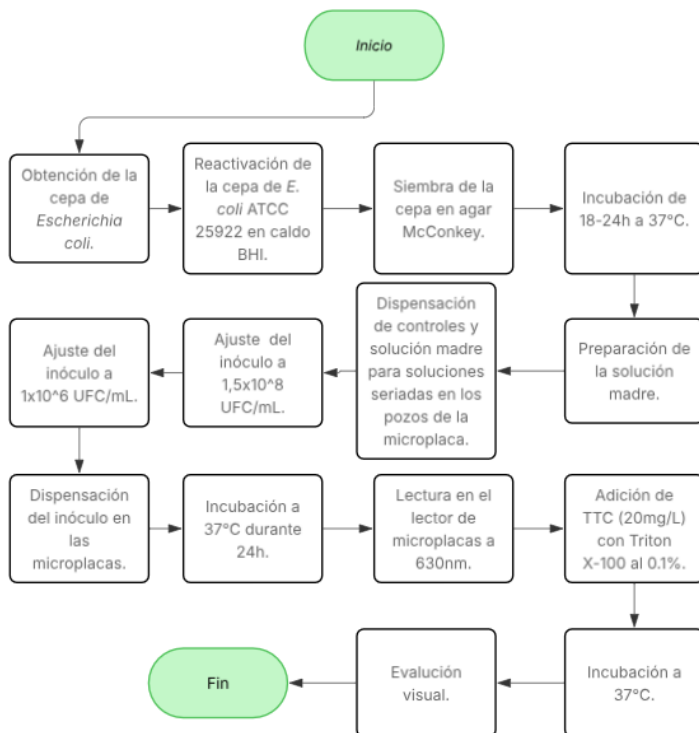
*Distribución de la microplaca para ver la inhibición del crecimiento bacteriano.*



*Nota.* Distribución de las concentraciones de los aceites esenciales en la microplaca. Fuente: Autora (2026).

**Figura 6**

*Procedimiento ejecutado en la metodología para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).*



Fuente: Autora (2026).

### 3.9.3 Fase 4. Inhibición de las biopelículas

La metodología para evaluar el porcentaje de disminución de las biopelículas se adaptó del protocolo propuesto por (Thongjuy et al., 2025) , el esquema seguido se puede ver en la Figura 8.

#### 3.9.3.1 Medio e inóculo

Se prepararon 100mL de medio BHI y 100 mL de medio BHI suplementado con Tween 80 al 0.2%.

El inóculo bacteriano se ajustó a 0.5 Mc Farland, posteriormente se diluyó en BHI para obtener aproximadamente  $1 \times 10^6$  UFC/mL.

#### 3.9.3.2 Metodología:

La evaluación de la actividad inhibitoria de biopelículas se realizó partiendo de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aceites de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo), a partir de ese valor de referencia se prepararon disoluciones de  $\frac{1}{2}$  x CMI y  $\frac{1}{4}$  x CMI. La actividad se evaluó mediante la inhibición de la formación (agregando el agente al mismo tiempo que el inóculo bacteriano) haciendo uso de placas de fondo plano para mayor adhesión. Tras un periodo de incubación de 24 horas, las biopelículas remanentes se cuantificaron mediante el método con cristal violeta. La distribución de los tratamientos y controles se pueden observar en la Figura 7.

Posterior a la incubación necesaria para que se formen las biopelículas, el contenido líquido se aspiró suavemente con una pipeta multicanal inclinando suavemente la microplaca y evitando perturbar el fondo. Inmediatamente se añadió 200  $\mu$ l de PBS estéril (pH 7.4) para los lavados. Este proceso se repitió tres veces de forma consecutiva para eliminar de forma efectiva todas las células bacterianas no adheridas (planctónicas) y los restos del medio de cultivo.

Después de los lavados, las biopelículas se fijaron añadiendo 200  $\mu$ l de metanol al 95% a cada pozo y se dejó actuar por 15 minutos a temperatura ambiente, posteriormente, se descartó el metanol y las muestras se secaron al aire. Para la tinción, se añadieron 150  $\mu$ L de una solución acuosa de violeta de cristal a 0.3% a cada pozo dejando actuar a temperatura ambiente durante 15 minutos para que el colorante se uniera a las biopelículas; el exceso de colorante se eliminó mediante tres lavados con PBS estéril hasta que el líquido salió incoloro, y se dejó secar la placa al aire antes de la solubilización y lectura.

Durante la cuantificación, el colorante unido a las biopelículas se solubilizó añadiendo 150  $\mu$ L de ácido acético glacial al 33% (v/v) a cada pozo. Tras una homogenización completa, toda la solución coloreada se transfirió a una nueva placa de fondo plano, donde se midió la densidad óptica a 630nm. Empleándose la siguiente fórmula.

El porcentaje de inhibición se calcula con la fórmula propuesta por (Adeyemo et al., 2022):

### **Formula 3**

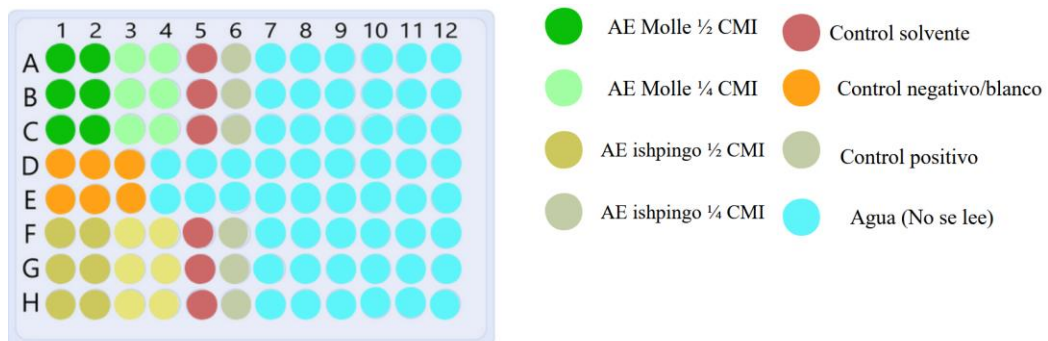
*Fórmula para calcular porcentaje de inhibición de la biopelícula*

$$\%Inhibición = \left[ \frac{(OD\ control - OD\ tratamiento)}{OD\ control} \right] \times 100$$

Fuente: (Adeyemo et al., 2022)

**Figura 7**

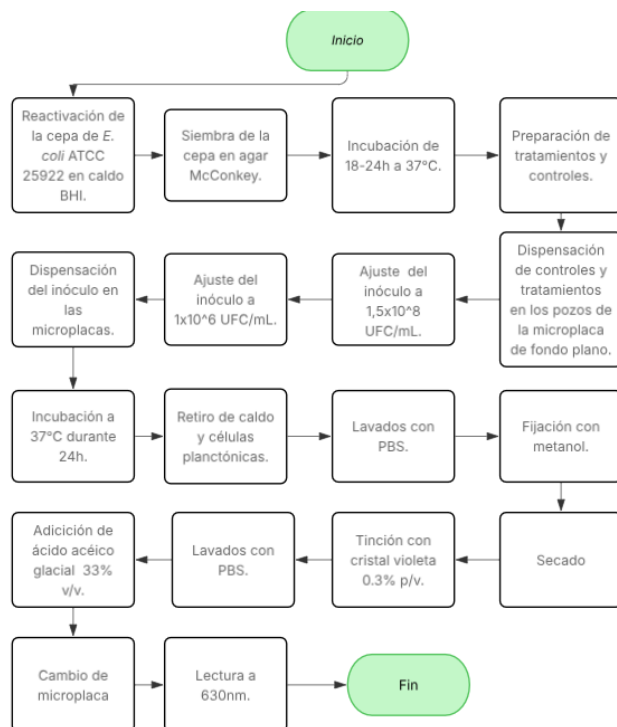
*Distribución de la microplaca para evaluar inhibición de la biopelícula.*



Fuente: Autora (2026).

**Figura 8**

*Procedimiento ejecutado en la metodología para determinar el porcentaje de inhibición de la biopelícula.*



Fuente: Autora (2026).

### 3.9.4 Bioautografía

#### 3.9.4.1 Cromatografía de capa fina

En este ensayo se emplearon cromatoplasmas para cromatografía TLC de sílice con dimensiones de 3cm x 8cm, se dibujaron dos líneas, la una a 1cm del borde superior y la otra a 1 cm del borde inferior. Para la prueba con *Ocotea quixos* (ishpingo) y *Schinus molle* (molle) se siguió la metodología de (Noriega et al., 2018; Sotalín, 2025). Para ello ambos aceites se diluyeron en metanol, posteriormente con la ayuda de una micropipeta se colocó con una 20  $\mu$ L de la disolución aceite/metanol en el centro de la línea dibujada en la parte inferior. Simultáneamente se saturó una cámara de cromatografía con 5mL de la fase móvil de tolueno, acetato de etilo, éter de petróleo (93:7:20 v/v/v) durante 10 minutos, una vez hecho esto se colocaron de forma vertical las cromatoplasmas y se dejó recorrer la fase móvil hasta alcanzar la línea del borde superior. Posteriormente se sacaron las cromatoplasmas y se dejó secar durante 2 minutos y para su posterior examinación con luz ultravioleta a 254nm y 366nm.

Durante revelado se siguió la metodología de (López, 2013; Sotalín, 2025), para ello se usaron una mezcla los reactivos que se detallan a continuación (Tabla 7).

**Tabla 7**

*Reactivos para revelado de la cromatografía*

Aceite esencial	Reactivos	Relación

---

<i>Schinus molle</i> (molle)	Vainillina, agua destilada, ácido sulfúrico concentrado	0.1:1:1 (p/v/v)
<i>Ocotea quixos</i> (ishpingo)	Ácido sulfúrico y agua destilada	1:1 (v/v)

---

Fuente: Autora

El frente de referencia para la cromatografía se calculó con la siguiente fórmula:

#### **Fórmula 4**

Fórmula del frente de referencia o factor de retención

$$R_f: \frac{\text{Distancia que corrió el soluto}}{\text{Distancia que corre el solvente}}$$

*Nota.* El valor de  $R_f$ , puede verse afectado por diversos factores, como el tipo de fase estacionaria, la polaridad del solvente, la temperatura y la concentración del disolvente:

Fuente: (Mahadevarao ; Sujatha & Zubair, 2024).

#### **3.9.4.2 Fase 5: Bioautografía**

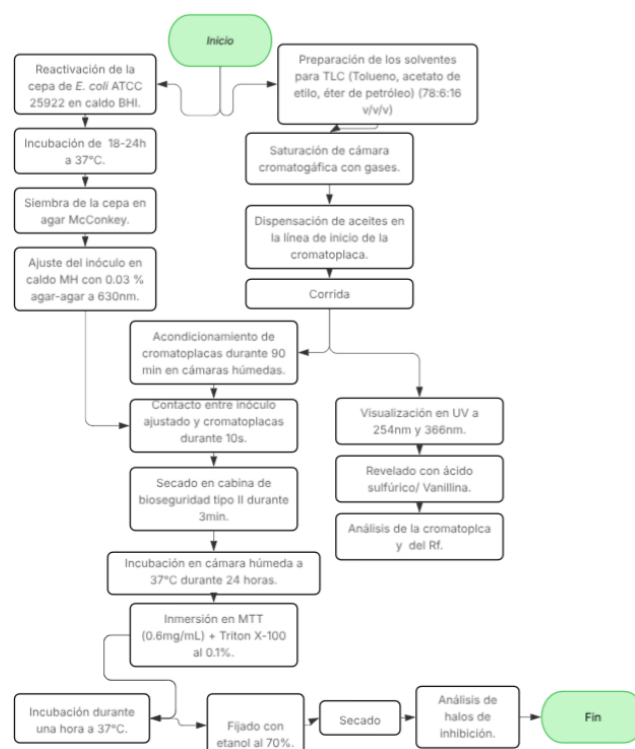
En esta prueba, se ajustó en Caldo MH + agar - agar al 0.3% a 37°C un inóculo bacteriano de *Escherichia coli* ATCC 25922 a 630nm en un espectrofotómetro y una absorbancia de 0.4, posteriormente se sumergieron cromatoplasmas de 3x8 cm que no fueron reveladas con ácido sulfúrico. Previo a la exposición con el inóculo, las placas fueron acondicionadas en cámaras húmedas elaboradas con cajas Petri durante 90 minutos.

Transcurrido el tiempo, se sumergieron las placas durante 10 segundos en la suspensión bacteriana y se secaron en una cabina de bioseguridad tipo II durante 3 minutos (Orellana, 2025).

En el revelado, se siguió la metodología de (Dewanjee et al., 2015; Orellana, 2025) para ello, las cromatoplasmas se sumergieron brevemente en una solución con colorante MTT (Azul de Tiazolil Bromuro) (0.6mg/mL) + Triton X-100 al 0.1%. Por último, se incubó dentro de las cámaras húmedas a 37°C durante 1 hora. Finalmente, las cromatoplasmas se sumergieron en etanol al 70% durante 10 segundos y se dejaron secar para su posterior análisis. El procedimiento ejecutado puede observarse en la Figura 9.

**Figura 9**

*Procedimiento de la metodología de bioautografía*



Fuente: Autora (2026).

## Capítulo IV

### 4. Resultados y discusiones

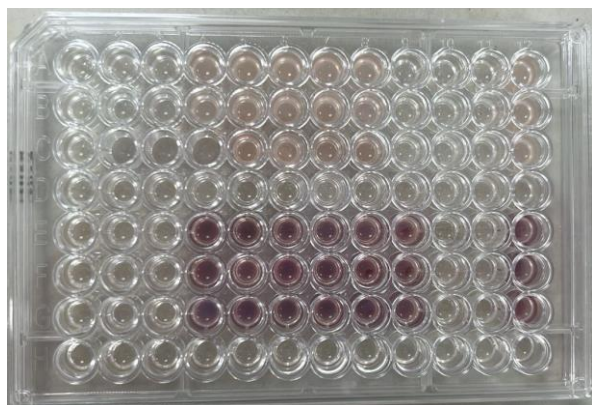
#### 4.1 Determinación de la concentración mínima inhibitoria

##### 4.1.1 Determinación de la CMI del aceite de *Schinus molle* (molle) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante el método de microdilución en microplaca.

La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Schinus molle* (molle) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, se llevó mediante el método de microdilución en microplaca, la lectura de la absorbancia se realizó en un lector de microplacas a 630nm (Anexo F), también se observó visualmente (Figura 10) la inhibición en las concentraciones de 4000, 2000, 1000  $\mu\text{g/mL}$  después de agregar 20  $\mu\text{L}$  de una mezcla de TTC (20mg/L) con Triton X-100 al 0.1% y dejar incubar 1 hora.

#### Figura 10

*Microplaca con tratamientos de Schinus molle (molle) y TTC luego de una hora de incubación.*



*Nota.* Los pozos en donde hubo crecimiento bacteriano se observaron con una coloración rosada. Fuente: Autora (2026).

**Tabla 8**

*Tabla de concentración mínima inhibitoria del aceite de Schinus molle (molle) frente a Escherichia coli ATCC 25922*

Cepa bacteriana	Escherichia coli ATCC 25922
Concentración ( $\mu\text{g/mL}$ )	1000 ( $\mu\text{g/mL}$ )

Fuente: Autora (2026).

A partir de los valores de absorbancia obtenidas tanto de los pozos a los cuales se les aplicó las disoluciones seriadas y del control positivo se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Schinus molle* (molle) (Anexo F), se estableció que aquellas concentraciones con un porcentaje de  $\geq 90\%$  poseían inhibición, siendo la concentración mínima inhibitoria (CMI) el tratamiento que cumpliera este requisito y que tuviera la menor concentración de aceite esencial, en este caso se evidencio que la CMI frente a *Escherichia coli* fue de 1000  $\mu\text{g/mL}$  (Tablas 8 y 9; Figura 10). Resultados similares fueron reportados por (Martins et al., 2014), quienes evaluaron y compararon la CMI de aceites esenciales obtenidos a partir de hojas y frutos de *Schinus molle* (molle) frente a diferentes cepas bacterianas, incluyendo *Escherichia coli* LFG03, estableciendo una CMI de 1000  $\mu\text{g/mL}$ .

En contraste, (do Prado et al., 2019) reportaron valores de CMI mayores a 5000  $\mu\text{g/mL}$ , frente a *Escherichia coli* ATCC 43895 productora de la toxina Shiga, lo que sugiere una menor sensibilidad de esta cepa al aceite esencial evaluado. Por otro lado, (Salem et al., 2016) informaron una actividad inhibitoria considerablemente mayor para aceites esenciales de hojas de *Schinus molle* (molle) con una CMI de 125  $\mu\text{g/mL}$ . Estas diferencias pueden

atribuirse a variaciones en la extracción, la parte vegetal empleada, la cepa bacteriana y la concentración del inóculo para los ensayos, lo que evidencia la influencia de estos factores en la actividad antimicrobiana reportada para esta especie vegetal.

**Tabla 9**

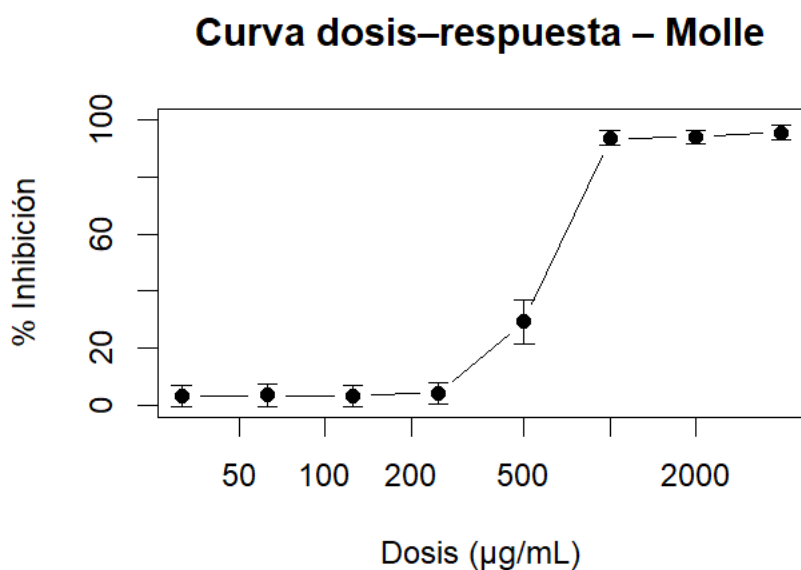
*Porcentajes de inhibición del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones del AE de Schinus molle (molle)*

<b>Concentraciones (<math>\mu\text{g/mL}</math>)</b>	<b>Absorbancia (media <math>\pm</math>DS)</b>	<b>Porcentaje de inhibición (%) media</b>
4000	0.146 $\pm$ 0.0229	96
2000	0.162 $\pm$ 0.0238	94
1000	0.164 $\pm$ 0.0271	94
500	0.798 $\pm$ 0.0811	30
250	1.055 $\pm$ 0.0347	4
125	1.066 $\pm$ 0.0491	3
62.5	1.090 $\pm$ 0.1600	4
31.25	1.069 $\pm$ 0.0453	3

Fuente: Autora (2026).

**Figura 11**

*Curva dosis- respuesta del efecto de Schinus molle (molle).*



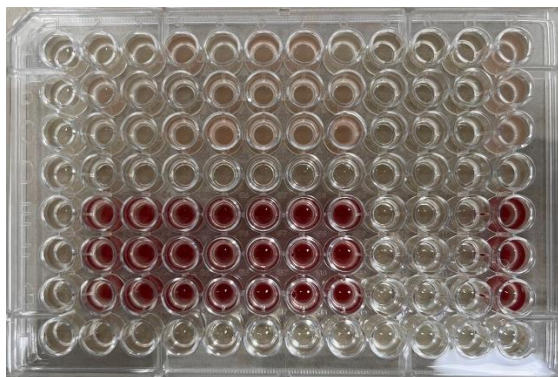
Fuente: Autora (2026).

#### **4.1.2 Determinación de la CMI del aceite de *Ocotea quixos* (ishpingo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 mediante el método de microdilución en microplaca.**

La determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, se realizó mediante el método de microdilución en microplaca, se leyeron las absorbancias en un lector de microplacas a 630nm (Anexo G) .La CMI también se estableció a partir de la lectura visual mediante el indicador TTC (Figura 12), determinándose en un valor de 4000 µg/mL como la concentración mínima capaz de inhibir el crecimiento bacteriano visible.

#### **Figura 12**

*Microplaca de Escherichia coli ATCC 25922 con tratamiento y TTC luego de una hora de incubación.*



*Nota.* Los pozos en donde hubo crecimiento bacteriano se observaron con una coloración rosada. Fuente: Autora (2026).

**Tabla 10**

*Tabla de resultados para la CMI del aceite de Ocotea quixos (ishpingo)*

Cepa bacteriana	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
Concentración $\mu\text{g/mL}$	4000 $\mu\text{g/mL}$

**Fuente:** Autora

A partir de los valores de absorbancia obtenidos (Tabla 11; Figura 12 y 13, Anexo G) tanto de los pozos a los cuales se les aplicó las disoluciones seriadas y del control positivo se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo), al igual que cuando se trabajó con el aceite de *Schinus molle* (molle), se estipuló que aquellas concentraciones con un porcentaje de  $\geq 90\%$  poseían inhibición, siendo el CMI el tratamiento que cumpliera este requisito y tuviera la menor concentración del aceite esencial, en este caso bajo las condiciones evaluadas se observó que solo hubo una concentración con inhibición por ende, se la consideró la concentración mínima inhibitoria (Tabla 11).

Resultados similares han sido reportados en la literatura; sin embargo, se observan variaciones atribuibles a las metodologías empleadas. (Fon et al., 2017) reportan una CMI de 5 $\mu$ L/mL para el aceite esencial obtenido de hojas de *Ocotea quixos* (ishpingo), mientras que (Noriega et al., 2018) determinan una CMI de 13.08 mg/mL para este mismo aceite. Estas diferencias pueden explicarse por el uso de metodologías distintas, ya que en el estudio de (Noriega et al., 2018) la actividad antimicrobiana fue evaluada mediante el método de difusión en disco, el cual emplea una carga bacteriana superior a la utilizada en ensayos de microdilución en microplaca, lo que puede influir directamente en los valores de la CMI obtenidos.

**Tabla 11**

*Porcentajes de inhibición del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones del AE Ocotea quixos (ishpingo)*

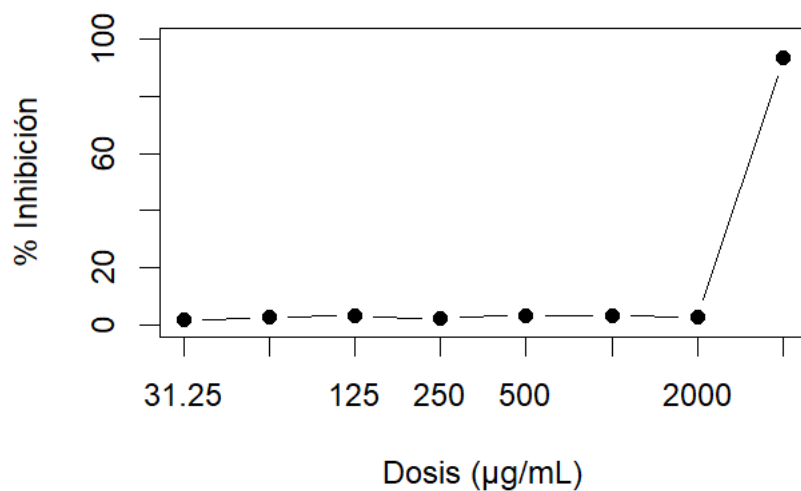
<b>Concentraciones (<math>\mu</math>g/mL)</b>	<b>Absorbancia (media <math>\pm</math>DS)</b>	<b>Porcentaje de inhibición (%) media</b>
4000	0.165 $\pm$ 0.0268	94
2000	1.062 $\pm$ 0.0340	3
1000	1.041 $\pm$ 0.0443	3
500	1.026 $\pm$ 0.0234	3
250	1.050 $\pm$ 0.0362	2
125	1.038 $\pm$ 0.0260	3
62.5	1.075 $\pm$ 0.0581	3
31.25	1.074 $\pm$ 0.0388	2

Fuente: Autora (2026).

**Figura 13**

*Curva dosis-respuesta del efecto de Ocotea quixos (ishpingo).*

### Curva dosis–respuesta frente a E. coli



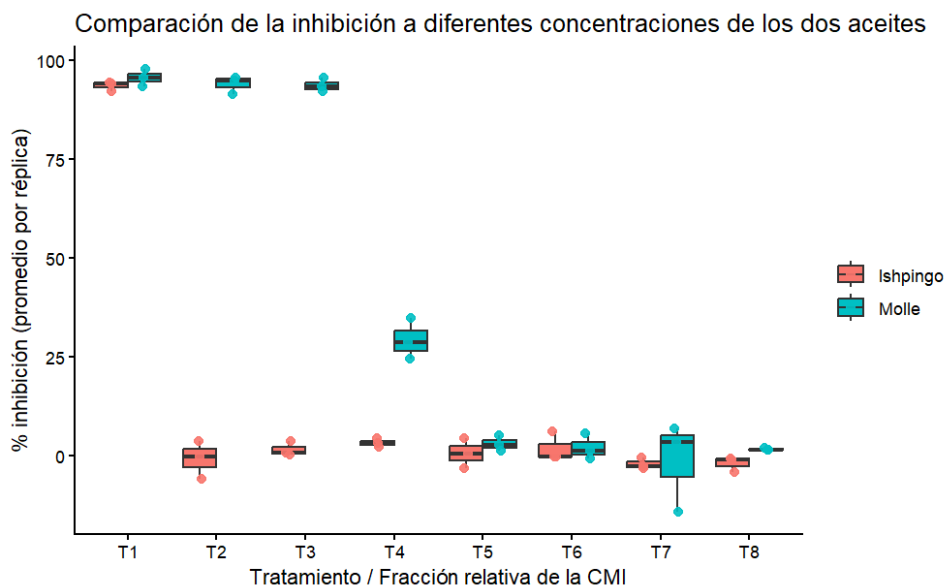
Fuente: Autora (2026).

#### 4.1.3 Análisis de diferencia

Para evaluar si existían diferencias entre los dos aceites esenciales evaluados, se realizó una comparación visual de los porcentajes de inhibición de las concentraciones empleadas durante la prueba para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante un diagrama de cajas, lo que permitió observar diferencias en el efecto inhibitorio. No se realizó una comparación estadística inferencial entre ambos aceites debido al número limitado de réplicas biológicas por tratamiento (n=3).

#### Figura 14

*Comparación visual del porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano.*



Fuente: Autora (2026).

## 4.2 Inhibición de las biopelículas

### 4.2.1 Inhibición de la biopelícula de *Escherichia coli* ATCC 25922 con *Schinus molle* (molle)

Se evaluó el porcentaje de inhibición de las biopelículas mediante los datos de la absorbancia de la microplaca a 630nm (Anexo H) de *Schinus molle* (molle) a dos concentraciones subinhibitorias ( $\frac{1}{2}$  CMI y  $\frac{1}{4}$  CMI). Mediante el ensayo con cristal violeta, se observó que el tratamiento a  $\frac{1}{2}$  CMI presentó un porcentaje medio de inhibición media de  $63.9 \pm 10.07\%$  mientras que el tratamiento  $\frac{1}{4}$  CMI mostró una inhibición media de  $49.66 \pm 11.42\%$ .

De esta forma, se demostró que el aceite esencial posee actividad contra las biopelículas bacterianas de *Escherichia coli* ATCC 25922. Actualmente la literatura específica sobre la acción del género *Schinus* contra bacterias Gram negativas es limitada, aunque podemos comparar la efectividad de inhibición de las biopelículas con *Schinus molle* de bacterias Gram positivas. De esta forma, una investigación realizada por (Tabti et al.,

2025), reporta un porcentaje de inhibición de 92.87% contra cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), los resultados de *Schinus molle* (molle) contra *Escherichia coli* ATCC 25922 sugieren que hay mecanismos de interferencia en etapas tempranas de la formación de la biopelícula.

**Tabla 12**

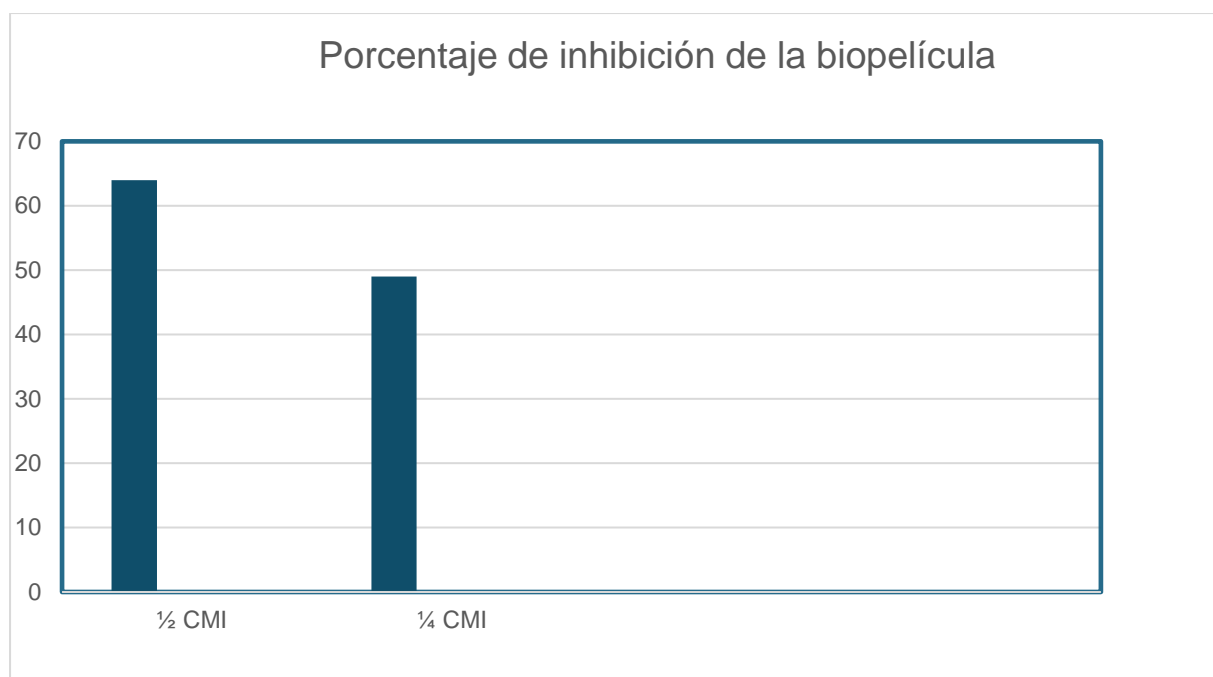
*Porcentajes de inhibición del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones del AE Schinus molle (molle).*

Aceite	Dosis	n	Media (%)	sd
<i>Schinus molle</i> (molle)	½ CMI	3	63.96	10.5
<i>Schinus molle</i> (molle)	¼ CMI	13	49.00	12.4

Fuente: Autora (2026).

**Figura 15**

*Representación gráfica del porcentaje de inhibición de la biopelícula bacteriana*



Fuente: Autora (2026).

#### 4.2.2 Inhibición de biopelículas de *Escherichia coli* ATCC 25922 con *Ocotea quixos* (ishpingo)

Se evaluó el efecto inhibitorio de biopelículas con el aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 a dos concentraciones por debajo del CMI (½ CMI y ¼ CMI), empleando el ensayo de tinción con cristal violeta. A partir de las absorbancias obtenidas se calculó el porcentaje de inhibición (Anexo I). Desde el análisis descriptivo, el tratamiento de ½ CMI presentó un porcentaje de inhibición de  $52.15 \pm 14.71\%$  mientras que el tratamiento ¼ CMI mostró una inhibición media de  $29.65 \pm 14.16\%$ .

**Tabla 13**

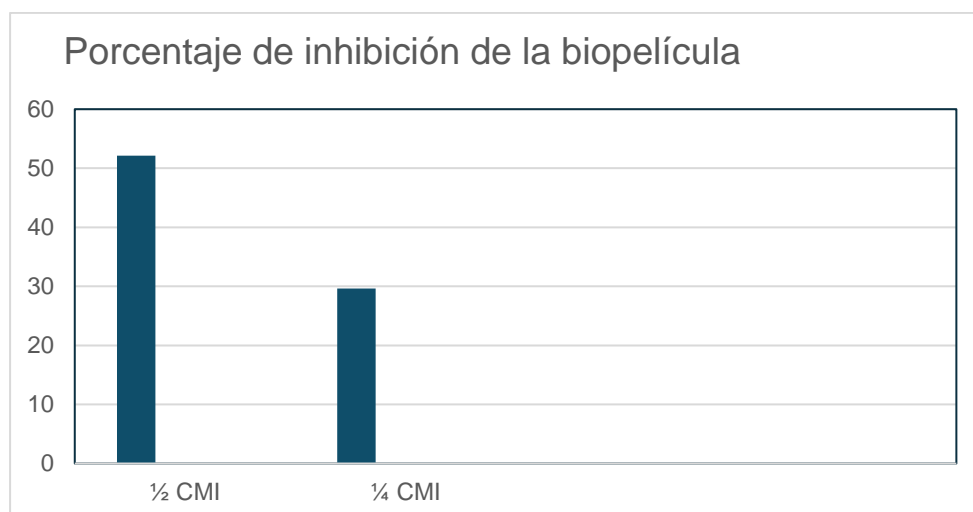
*Porcentajes de inhibición del crecimiento bacteriano a diferentes concentraciones del AE Ocotea quixos (ishpingo)*

Aceite	Dosis	n	Media (%)	sd
Ishpingo	½ CMI	3	52.15	14.71
Ishpingo	¼ CMI	3	29.65	14.16

Actualmente no hay estudios sobre el efecto del género botánico *Ocotea* y su efecto sobre las biopelículas de *Escherichia coli*, sin embargo, podemos comparar con investigaciones previas de géneros botánicos de la familia Lauraceae con un similar perfil fitoquímico a nuestro aceite, por ejemplo, en un estudio llevado a cabo por (Kosari et al., 2020), se evaluó el efecto del aceite esencial de *Cinnamomun spp* (canela), un aceite rico en cinamaldehído y sus derivados, sobre la inhibición de la formación de las biopelículas de *Escherichia coli* aisladas de entornos clínicos y se obtuvo un porcentaje de inhibición de un 60%. De igual forma, (Scotti et al., 2021), evaluaron la inhibición de la biopelícula de *Escherichia coli* O157:H7 tratado con aceite esencial de *Cinnamomun verum*, también rico en cinamaldehído, mediante método de cristal-violeta en concentraciones subinhibitorias, obteniendo una reducción de la biopelícula en un rango de 55% -100%.

### Figura 16

*Representación gráfica del porcentaje de inhibición de la biopelícula bacteriana.*



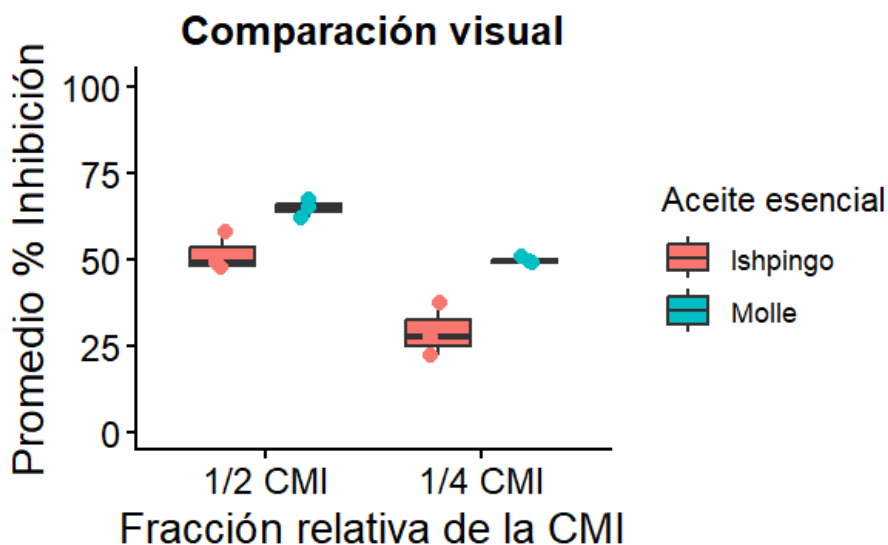
Fuente: Autora (2026).

### 4.2.3 Análisis de diferencia del efecto de los aceites esenciales evaluados sobre las biopelículas

Para evaluar el comportamiento inhibitorio de la biopelícula de los aceites esenciales, se realizó una comparación descriptiva de los porcentajes de inhibición de las biopelículas obtenidos respecto a las fracciones relativas de la concentración mínima inhibitoria empleadas en el ensayo con cristal violeta, esto se realizó mediante diagramas de cajas. Permitiendo visualizar tendencias en el efecto inhibitorio entre los tratamientos. No se efectuó una comparación estadística inferencial entre ambos aceites debido al número limitado de réplicas biológicas por tratamiento ( $n=3$ ).

**Figura 17**

*Comparación visual del porcentaje de inhibición de la biopelícula.*



*Nota.* Se utilizaron fracciones relativas de la concentración mínima inhibitoria (CMI) con el objetivo de evaluar el efecto de los aceites esenciales a concentraciones subinhibitorias comparables en términos de precisión biológica sobre el microorganismo, independientemente de las diferencias en la potencia intrínseca de cada aceite esencial.

Podemos observar que hay diferencia entre los porcentajes de inhibición de cada aceite.

Fuente: Autora (2026).

### 4.3 Bioautografía

#### 4.3.1 Detección de compuestos con capacidades antimicrobianas del aceite esencial de *Schinus molle* (molle) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, mediante el ensayo de bioautografía.

Mediante el método de bioautografía- TLC, ilustrado en las figuras 18,19 y 20 se evidenció la presencia de compuestos con actividad antimicrobiana en el aceite de *Schinus molle* (molle). Se observó la formación de un halo de inhibición comprendido entre los valores de Rf de 0.26 y 0.64, lo que sugiere que los compuestos responsables de la actividad inhibitoria se localizan en dicha región de la cromatografía. Estas zonas se diferenciaron claramente de las áreas de crecimiento bacteriano, las cuales presentaron una coloración violeta como resultado de la reacción con el indicador MTT. En la Tabla 14, se detallan los posibles metabolitos secundarios identificados, junto con sus respectivos valores de Rf en base a bibliografía tomando como referencia el análisis GC/MS provisto por la empresa Aromavida® (Anexos B y C).

**Tabla 14**

*Posibles metabolitos secundarios del aceite esencial de Schinus molle con actividad antibacteriana*

	Distancia recorrida (cm)	Distancia solvente (cm)	Frente de referencia	Posibles compuestos antimicrobianos	Color a 366nm
1	1.54	6	0.26	$\alpha/\beta$ -felandreno	Rojo
2	2.77-3.1	6	0.45-0.52	$\beta$ -cariofileno	Naranja
3	3.44	6	0.57	Limoneno	Verde

Fuente: Autora (2026).

De acuerdo con el Atlas de (Wagner & Blatt, 1996), el  $\alpha$  y  $\beta$ -felandreno tienen un Rf comprendido entre 0.2 y 0.4, y tras la aplicación de los reactivos reveladores puede visualizarse con tonalidades rojizas o violáceas. Por su parte, el  $\beta$ -cariofileno muestra un valor de Rf aproximado de 0.5, y, al emplear el revelador de vainillina, se observa con coloraciones anaranjadas o pardas. Asimismo, en el estudio realizado por (Córdova et al., 2009), al correr un estándar de limoneno en cromatografía empleando tolueno y acetato de etilo se obtuvo un Rf entre 0.52 y 0.70, el cual presentó coloraciones verdes, azules o moradas tras la revelación cromatográfica.

Los compuestos supuestamente identificados en la región cromatográfica asociada a la actividad inhibitoria corresponden principalmente a terpenos, un grupo de metabolitos secundarios ampliamente reportados por su acción antimicrobiana. Entre ellos, el  $\alpha$  y  $\beta$ -felandreno son isómeros monoterpénicos cíclicos pertenecientes a la familia de los p-mentadienos. El  $\alpha$ -felandreno se encuentra mayoritariamente en especies como *Eucalyptus dives*, *Curcuma zedoaria* y *Anethum graveolens* y ha demostrado una amplia gama de actividades biológicas, entre las que se incluyen efectos antiinflamatorios, analgésicos, antimicrobianos e insecticidas. Estudios *in vitro* han demostrado que este exhibe una actividad antimicrobiana notable contra cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, su mecanismo de acción está asociada con la alteración de la permeabilidad y la integridad de la membrana celular. Por otro lado, el  $\beta$ -felandreno, es abundante en el género *Pinaceae*, aunque comparte algunas propiedades con su isómera alfa, como una actividad antimicrobiana base, el perfil farmacológico del  $\beta$ -felandreno ha sido menos estudiado en profundidad. No obstante, la investigación también sugiere que este puede contribuir a los

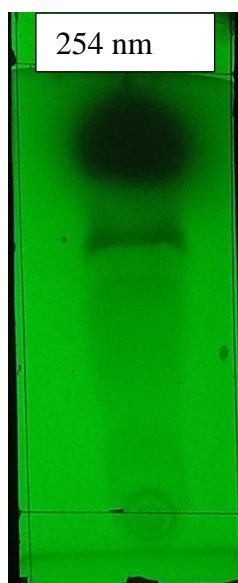
efectos sinérgicos observados en los aceites esenciales (Thangaleela, Sivamaruthi, Kesika, Tiyyajamorn, et al., 2022),.

Asimismo, el  $\beta$ -cariofileno, es un sesquiterpeno bicíclico natural, presente principalmente en los géneros *Piper* y *Syzygium*, se ha visto que tiene una potente actividad antibacteriana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, su acción está relacionada con la desestabilización de la membrana celular, atribuido a la alta lipofilicidad del compuesto (Francomano et al., 2019).

Finalmente, el limoneno es un terpeno cíclico, presente principalmente en géneros como *Citrus* y *Cymbopogon*, su actividad biológica incluye acción insecticida, antioxidante, antiinflamatorio, su efecto antimicrobiano se basa en el daño a las membranas celulares, la alteración del metabolismo energético y la intervención en la formación de biopelículas (Lin et al., 2024) .

### Figura 18

*Cromatografía TLC de Schinus molle (molle) a 254nm.*



Fuente: Autora (2026).

**Figura 19**

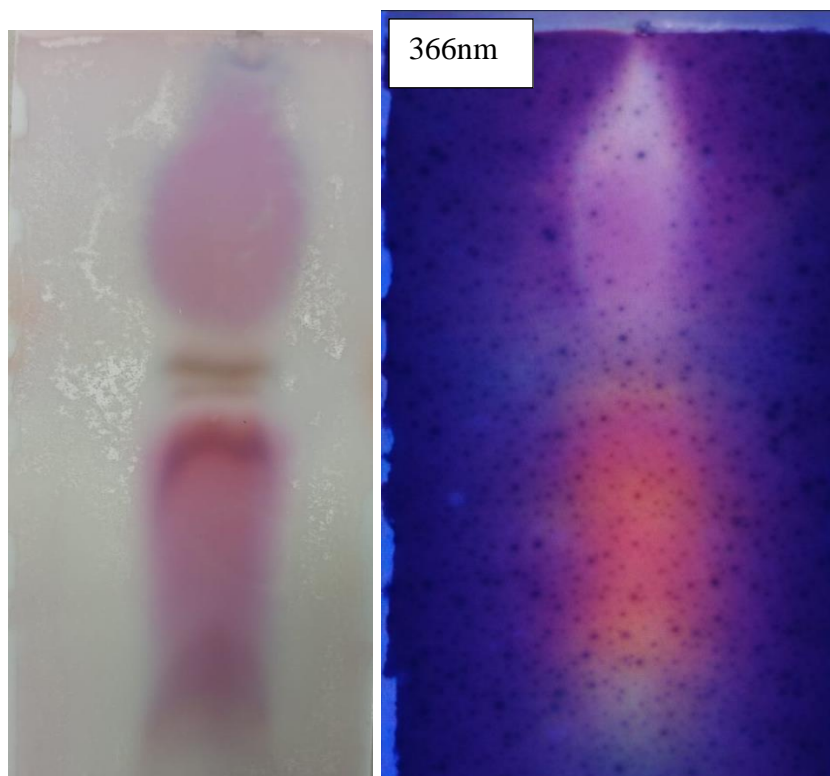
*Cromatografía TLC de Schinus molle (molle) a 366nm.*



Fuente: Autora (2026).

**Figura 20**

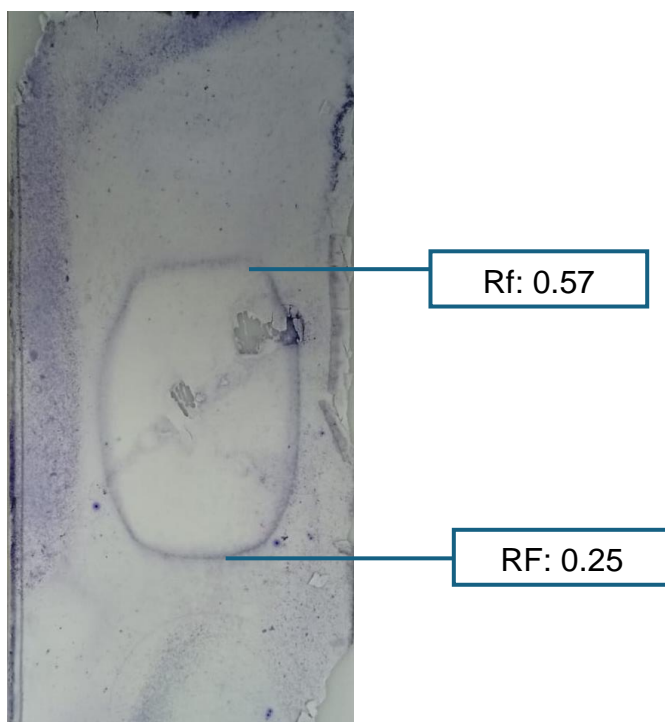
*Cromatografía TLC de Schinus molle (molle) revelada con vainillina y ácido sulfúrico.*



*Nota.* A la izquierda cromatoplaaca revelada con vainillina y ácido sulfúrico, a la derecha cromatoplaaca revelada con vainillina y ácido sulfúrico en luz UV a 366nm luego de estar 20 minutos en una estufa a 80°C. Fuente: Autora (2026).

**Figura 21**

*Bioautografía de Schinus molle revelada con MTT.*



Fuente: Autora (2026)

#### **4.3.2 Detección de compuestos con capacidades antimicrobianas del aceite esencial de *Ocotea quixos* frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, mediante el ensayo de bioautografía.**

Con el método de TLC-Bioautografía ilustrados en las figuras 22, 23, 24 y 25 se evidenció la presencia de compuestos bioactivos con actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo). Se identificaron dos halos blanquecinos correspondientes a los metabolitos con acción inhibitoria frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, diferenciándose de las zonas de crecimiento que presentaron una coloración violácea luego de ser revelados con MTT. En la Tabla 15, se detallan los posibles metabolitos secundarios identificados, junto con sus respectivos Rf en base a la bibliografía tomando

como referencia el análisis GC/MS de la ficha técnica provista por la fundación Chankuap (Anexo D).

**Tabla 15**

*Posibles metabolitos secundarios del aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) con actividad antibacteriana*

	Distancia recorrida (cm)	Distancia solvente (cm)	Frente de referencia	Posibles compuestos antimicrobianos	Color a 366nm
1	1.1	6	0.18	$\alpha$ -trans-bergamoteno	Azul tenue
2	2.14	6	0.35	1,8 cineol	Verde
3	2.4	6	0.4	Metoxicinamaldehído	Amarillo-verdoso
4	3.22	6	0.54	Acetato de cinamilo	Marrón oscuro

Fuente: Autora (2026).

Posteriormente, a partir de los valores del frente de referencia (Rf) y de las coloraciones observadas tras el revelado con ácido sulfúrico, se propuso la identificación de los posibles metabolitos presentes en las zonas inhibitorias. De acuerdo con lo reportado por (Noriega et al., 2018) un valor de Rf de 0.18 corresponde al  $\alpha$ -trans-bergamoteno, mientras que un Rf de 0.40 se asocia al metoxicinamaldehído y un Rf de 0.54 corresponde al acetato de cinamilo. De igual modo, (López, 2013) analizó un aceite esencial foliar de *Ocotea quixos* (ishpingo) perteneciente al proyecto Chankuap y reportó una coloración verde tras el revelado con ácido sulfúrico, característica atribuida al 1,8-cineol. En concordancia con este hallazgo,

el valor de Rf de 0.35 observado en el presente estudio sugiere la presencia de dicho compuesto en la fracción correspondiente.

Los metabolitos identificados en las zonas inhibitorias del aceite esencial *Ocotea quixos* (ishpingo) corresponden principalmente a terpenos y derivados fenólicos. Entre ellos, el  $\alpha$ -trans-bergamoteno es un sesquiterpeno bicíclico reconocido principalmente por su aroma dulce y cítrico. A este compuesto, así como a otros bergamotenos, se le han descrito actividades antiinflamatorias, asociadas a la inhibición de la producción de óxido nítrico, y antioxidantes, debido su capacidad de capturar radicales libres. Estos compuestos también presentan actividad antimicrobiana contra bacterias, atribuido a su naturaleza lipofílica, que les permite intercalarse en la bicapa lipídica de la membrana celular, además de reducir la adherencia bacteriana y la formación de biopelículas (Annaz et al., 2024).

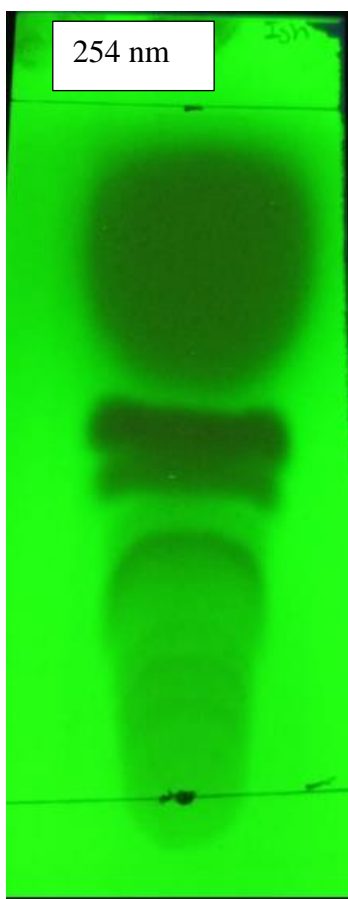
Por otro lado, el metoxicinamaldehído es un compuesto orgánico derivado del cinamaldehído, este ejerce su actividad antimicrobiana mediante el daño a la membrana celular, el aumento de la permeabilidad, la peroxidación lipídica y la interferencia en procesos de transcripción y expresión génica (Wu et al., 2025).

Otro compuesto relevante es el eucaliptol o 1,8 cineol, este es un monoterpeno bicíclico presente principalmente en aceites esenciales de eucalipto, romero y otras plantas. Se usa por sus propiedades biológicas en el tratamiento de afecciones respiratorias como sinusitis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), debido a su baja actividad selectiva. Respecto a su actividad antibacteriana, este compuesto es capaz de alterar la integridad de la membrana celular al aumentar su permeabilidad y permitir la fuga de material intracelular, además, promueve la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que dañan el contenido intracelular bacteriano como ADN, proteínas y lípidos (Moo et al., 2021) .

Finalmente, el acetato de cinamilo es un éster derivado del alcohol cinámico y ácido acético. Es un líquido incoloro utilizado como fragancia y saborizante y como repelente de mosquitos. Se ha visto que aceites ricos en este compuesto, presentan actividad antibacteriana y antifúngica, sin embargo, no se ha estudiado su mecanismo de acción (Cooper & Jeffrey, 2020).

### Figura 22

*Cromatografía TLC de Ocotea quixos (ishpingo) a 254nm.*



Fuente: Autora (2026).

**Figura 23**

*Cromatografía TLC de Ocotea quixos (ishpingo) a 366nm.*



Fuente: Autora (2026).

**Figura 24**

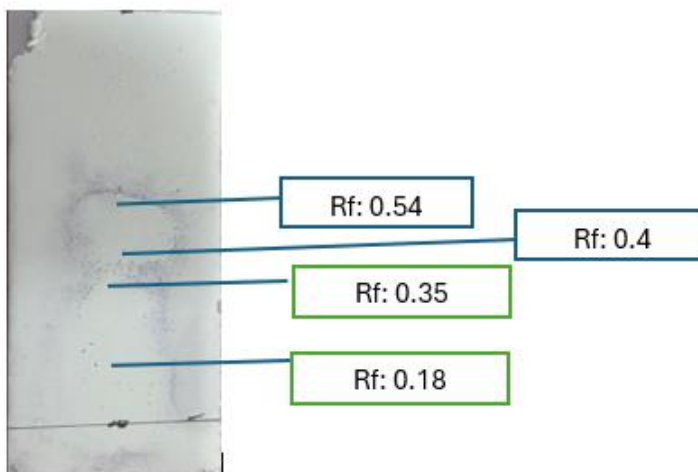
*Cromatografía TLC de Ocotea quixos (ishpingo) a 366nm luego de ser revelado con ácido sulfúrico.*



Fuente: Autora (2026).

**Figura 25**

*Bioautografía de Ocotea quixos revelada con MTT.*



*Nota.* Frentes de referencia del halo de inhibición. Fuente: Autora (2026).

## Capítulo V

### 5. Conclusiones y recomendaciones

#### 5.1 Conclusiones

Basado en la evaluación *in vitro* de la actividad antimicrobiana a partir de los aceites esenciales de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 se derivan las siguientes conclusiones:

El aceite esencial de *Schinus molle* (molle) presentó una mayor actividad inhibitoria frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 evidenciada por una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 1000 µg/mL en comparación con el aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) cuya CMI fue de 4000 µg/mL. Estos resultados revelan la riqueza de los compuestos bioactivos en los aceites esenciales evaluados, la presencia de monoterpenos como felandrenos y limonenos presentes en el aceite esencial de *Schinus molle* (molle) contribuyen a una mejor actividad antimicrobiana.

En relación con la actividad inhibitoria de las biopelículas el aceite de *Schinus molle* (molle) presentó mejor efecto inhibitorio en comparación con el aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) tanto a ½ CMI (63.9 % ±10.1 vs 52.4% ±14.2) como a ¼ CMI (49.7% ±11.4 vs 29.3% ±13.6). Estos resultados indican que el aceite de *Schinus molle* (molle) presenta mayor actividad en lo que respecta a la inhibición de biopelículas. Lo que sugiere su posible aplicación como agente natural para la prevención y control de biopelículas microbianas, la diferencia observada entre ambos aceites se puede atribuir a la variación en la composición química resaltando la importancia del análisis de los principios bioactivos en futuras investigaciones

Finalmente, se identificó los principales metabolitos secundarios presumiblemente responsables de la actividad biológica de los aceites esenciales frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, en base a los frentes de referencia (Rf) y bibliografía, se permitió asociar determinados metabolitos con la actividad antimicrobiana. De esta forma, en el aceite esencial de *Schinus molle* (molle) evaluado se detectaron compuestos terpénicos como felandrenos, cariofileno y limoneno, que poseen la capacidad de alterar la integridad de la membrana celular bacteriana contribuyendo a su efecto antimicrobiano. Por su parte, en el aceite esencial de *Ocotea quixos* (ishpingo) se identificaron los posibles metabolitos tales como el acetato de cinamilo, 1,8 cineol, el metoxicinamaldehído y el bergamoteno. Estos metabolitos han demostrado actividad antimicrobiana en estudios previos.

En base a los resultados obtenidos no se pudo demostrar de manera estadísticamente significativa que el tipo de aceite esencial, *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) influya en la actividad inhibitoria *in vitro* frente *Escherichia coli* ATCC 25922. Aunque se observaron diferencias en la actividad inhibitoria entre ambos aceites de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo), el número limitado de replicas (n=3), no permitió realizar un análisis estadístico robusto que confirmara la hipótesis planteada, siendo necesario aumentar el tamaño muestral en futuras investigaciones.

## **5.2 Recomendaciones:**

Se recomienda explorar y realizar más estudios acerca de la efectividad antimicrobiana de *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) en contra de otros microorganismos debido a que estos aceites no solo cuentan con actividad antibacteriana, sino antifúngica y antiviral.

Se sugiere hacer estudios de la actividad de los aceites esenciales *Schinus molle* (molle) y *Ocotea quixos* (ishpingo) y su efecto en biopelículas preformadas, debido a que es un tema de importancia clínica.

Se recomienda explorar más acerca de los componentes presentes en ambos aceites y hacer análisis que confirmen la presencia de los posibles metabolitos secundarios en los halos de inhibición de las cromatoplasmas, bioautográficas mediante análisis GC/MS u otras técnicas analíticas.

Antes de considerar aplicaciones industriales o clínicas es necesario evaluar la citotoxicidad de los aceites en líneas celulares o modelos animales, para garantizar la seguridad de estos.

## Referencias

- Abderrahim, A., Belhamel, K., Chalard, P., & Figuéredo, G. (2018). Correlation between chemical composition and antioxidant activity of the essential oils from leaves and berries of *Schinus molle* L. growing in two areas of Bejaia (Algeria). *Journal of Food Measurement and Characterization*, *12*(2), 1123-1134. <https://doi.org/10.1007/S11694-018-9727-2/METRICS>
- Adeyemo, R. O., Famuyide, I. M., Dzoyem, J. P., & Lyndy Joy, M. (2022). Anti-Biofilm, Antibacterial, and Anti-Quorum Sensing Activities of Selected South African Plants Traditionally Used to Treat Diarrhoea. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, *2022*, 1307801. <https://doi.org/10.1155/2022/1307801>
- Agencia Nacional de Regulación, C. y V. S. (2016). *ANEXO 1: GUÍA DE REQUISITOS REQUISITOS PARA LA INSCRIPCIÓN DEL REGISTRO SANITARIO DE PRODUCTOS NATURALES PROCESADOS DE USO MEDICINAL NACIONALES. Octubre , 2014 Versión [2.0]*. [https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/12/IE-D.1.1-PN-01-A1\\_Requisitos-para-Inscripci%C2%A2n-de-Productos-Naturales-Nacionales.pdf](https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2016/12/IE-D.1.1-PN-01-A1_Requisitos-para-Inscripci%C2%A2n-de-Productos-Naturales-Nacionales.pdf)
- Agreles, M. A. A., Cavalcanti, I. D. L., & Cavalcanti, I. M. F. (2021). The Role of Essential Oils in the Inhibition of Efflux Pumps and Reversion of Bacterial Resistance to Antimicrobials. *Current microbiology*, *78*(10), 3609-3619. <https://doi.org/10.1007/S00284-021-02635-1>
- Téllez, A., Toro, L., Franco Castrillon, J., Henao, D., & Castaño Osorio, J. (2019). *MICRO-DILUCIÓN EN PLACA PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA EN 50 uL v3*. <https://doi.org/10.17504/PROTOCOLS.IO.8XMHXK6>

- American Type Culture. (2024). *Escherichia coli (Migula) Castellani and Chalmers - 25922 / ATCC*. <https://www.atcc.org/products/25922>
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl\_1), 5-16.  
[https://doi.org/10.1093/JAC/48.SUPPL\\_1.5](https://doi.org/10.1093/JAC/48.SUPPL_1.5)
- Annaz, H., El Fakhouri, K., Ben Bakrim, W., Mahdi, I., El Bouhssini, M., Sobeh, M., el Fakhouri, K., Ben Bakrim, widad, Mahdi, ismail, & el Bouhssini, M. (2024). Bergamotenes: A comprehensive compile of their natural occurrence, biosynthesis, toxicity, therapeutic merits and agricultural applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 64(21), 7343-7362.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2184766>
- Armijos, C., Ramírez, J., Salinas, M., Vidari, G., Suárez, A. I., Armijos, C., Ramírez, J., Salinas, M., Vidari, G., & Suárez, A. I. (2021). Pharmacology and Phytochemistry of Ecuadorian Medicinal Plants: An Update and Perspectives. *Pharmaceuticals 2021, Vol. 14*, 14(11). <https://doi.org/10.3390/PH14111145>
- Arzmi, M. H., Kamil, W. N. H. W. A., & Zainal, M. (2023). Monospecies and polymicrobial biofilms in static and flow environment. *Methods in Microbiology*, 53, 51-66.  
<https://doi.org/10.1016/BS.MIM.2023.05.002>
- Ballén, V., Cepas, V., Ratia, C., Gabasa, Y., Soto, S. M., Ballén, V., Cepas, V., Ratia, C., Gabasa, Y., & Soto, S. M. (2022). Clinical Escherichia coli: From Biofilm Formation to New Antibiofilm Strategies. *Microorganisms 2022, Vol. 10*, 10(6).  
<https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS10061103>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79.  
<https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2015.11.005>

- Barbosa, R., García-Villén, F., Ruggeri, M., Cinà, G., Massaro, M., Protti, M., Sandri, G., RIELA, S., Zini, C., Mercolini, L., & Viseras, C. (2026). Laponite-based nano-emulsions of amazonian essential oils. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *115*, 107669. <https://doi.org/10.1016/J.JDDST.2025.107669>
- Basavaraju, M., & Gunashree, B. S. (2022). *Escherichia coli*: An Overview of Main Characteristics. *Escherichia coli - Old and New Insights*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.105508>
- Belloumi, S., Bourgou, S., Jallouli, S., Fares, N., Hamdi, S. H., Bachrouch, O., Sriti, J., Jemaa, J. M. Ben, Msaada, K., & Salem, N. (2025). Fractionation of *Schinus molle* essential oil: chemical composition, antimicrobial, insecticidal and anti-inflammatory potentials. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*, *10*(3), 1931-1943. <https://doi.org/10.1007/S41207-024-00651-8/TABLES/5>
- Biblioteca Nacional de Medicina. (2025). *Infecciones por Escherichia coli*. National Library of Medicine. medlineplus.gov. <https://medlineplus.gov/spanish/ecoliinfections.html>
- Bona, E. A. M. De, Pinto, F. G. da S., Fruet, T. K., Jorge, T. C. M., & Moura, A. C. de. (2014). Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arquivos do Instituto Biológico*, *81*(3), 218-225. <https://doi.org/10.1590/1808-1657001192012>
- Braz, V. S., Melchior, K., & Moreira, C. G. (2020). *Escherichia coli* as a Multifaceted Pathogenic and Versatile Bacterium. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*, 548492. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2020.548492/XML>
- Cadena, C. A., Cuenca León, K. de los Á., Pacheco Quito, E. M., & Lima Illescas, M. V. (2025). In vitro evaluation of the effectiveness of *Schinus molle* essential oil against

- Candida albicans: resistant and sensitive strains. *Revista Científica Odontológica*, 13(3), e248. <https://doi.org/10.21142/2523-2754-1303-2025-248>
- Camacho, P., David, J., Bojorque, B., & Andrés, J. (2022). *Efecto inhibitorio del extracto de Schinus Molle L. (Molle), a diferentes tiempos y concentraciones sobre cepas de Staphylococcus aureus. Estudio in vitro.*
- Camiletti, B. X., Asensio, C. M., de la Pecci, M. de la P. G., & Lucini, E. I. (2014). Natural Control of Corn Postharvest Fungi *Aspergillus flavus* and *Penicillium* sp. Using Essential Oils from Plants Grown in Argentina. *Journal of Food Science*, 79(12), M2499-M2506. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12700>
- Casado, I. (2018). *Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor* [Universidad Politécnica de Madrid]. <https://oa.upm.es/49669/>
- Chagnoleau, J. B., Fernandez, X., Armand, V., Coutinho, J. A. P., Nothias-Esposito, M., & Papaiconomou, N. (2025). Enhanced extraction of *Schinus molle* L. volatile compounds using sustainable solvents. *Separation and Purification Technology*, 377, 134107. <https://doi.org/10.1016/J.SEPPUR.2025.134107>
- Chakraborty, S., Johura, F. T., Sultana, M., Zhang, X., Sadique, A., George, C. M., Monira, S., Sack, D. A., Sack, R. B., & Alam, M. (2024). Epidemiology of Enterotoxigenic *Escherichia coli* among Children and Adults Seeking Care at Hospitals in Two Geographically Distinct Rural Areas in Bangladesh. *Microorganisms*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS12020359/S1>
- Chango, K. (2018). *Efecto inhibitorio del aceite esencial de Ocotea quixos al 50%, 75% y 100% sobre cepas de Porphyromonas gingivalis ATCC33277* [Universidad Central del Ecuador]. <https://www.dspace.uce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/f3d5ba16-b351-4653-bc50-94af2f7584d8/content>

- Cooper, R., & Jeffrey, J. (2020). Natural Products of Silk Road Plants. En *Natural Products of Silk Road Plants*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429061547/NATURAL-PRODUCTS-SILK-ROAD-PLANTS-RAYMOND-COOPER-JEFFREY-JOHN-DEAKIN>
- Córdova, D., Dardón, R., González, J., Leiva, M., & Cruz, S. (2009). *Determinación y cuantificación de la actividad antioxidante de especies nativas y su posible fuente para el desarrollo de nutracéuticos.* --/ [Universidad de San Carlos de Guatemala]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/library/index.php?title=1538&query=@title=Special:GSMSearchPage@process=@autor=GONZALEZ,%20A.%20@mode=&recnum=109>
- Costa da Silva, M., de Araújo, J., Lucas dos Santos, T., de Moraes Oliveira-Tintino, C., Justino de Araújo, A., Freitas, P. R., Silva, L. E. da, Amaral, W. do, Deschamps, C., Azevedo, F. R. de, Lima, C. M. G., Golubkina, N., Calixto-Júnior, J. T., Ribeiro-Filho, J., Coutinho, H. D. M., Caruso, G., Tintino, S. R., Silva, M. M. C. da, Neto, J. B. de A., ... Tintino, S. R. (2023). Antibiotic-Potentiating Activity of the *Schinus terebinthifolius* Raddi Essential Oil against MDR Bacterial Strains. *Plants* 2023, Vol. 12, 12(8). <https://doi.org/10.3390/PLANTS12081587>
- da Silva, I. R. R., Fernandes, C. C., Gonçalves, D. S., Martins, C. H. G., & Miranda, M. L. D. (2024). Chemical composition and anti-*Xanthomonas citri* activities of essential oils from *Schinus molle* L. fresh and dry leaves and of its major constituent spathulenol. *Natural Product Research*, 38(19), 3476-3480. <https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2249584>
- Dewanjee, S., Gangopadhyay, M., Bhattacharya, N., Khanra, R., & Dua, T. K. (2015). Bioautography and its scope in the field of natural product chemistry. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 5(2), 75-84. <https://doi.org/10.1016/J.JPHA.2014.06.002>

do Prado, A. C., Garces, H. G., Bagagli, E., Rall, V. L. M., Furlanetto, A., Fernandes Junior, A., & Furtado, F. B. (2019). Schinus molle essential oil as a potential source of bioactive compounds: antifungal and antibacterial properties. *Journal of Applied Microbiology*, 126(2), 516-522. <https://doi.org/10.1111/JAM.14157>

Fon, F., Casariego, A., Falco, A. S., & Pino, J. A. (2017). ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE ACEITES ESENCIALES DE OCOTEA QUIXOS (LAM.) KOSTERM, BURSERIA GRAVEOLENS (KUNTH) TRIANA Y PLANCH, CYMBOPOGON CITRATUS (DC) STAPF, Y CURCUMA LONGA (L.) SOBRE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES DE ALIMENTOS/Antimicrobial activity of essential oils from Ocotea quixos (Lam.) Kosterm, Bursera graveolens (Kunth) Triana & Planch, Cymbopogon citratus (DC) Stapf, and Curcuma longa L. against food contaminant microorganisms. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos*, 27(3), 27-32. <https://go.gale.com/ps/i.do?p=AONE&sw=w&issn=08644497&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA636224890&sid=googleScholar&linkaccess=fulltext>

Francomano, F., Caruso, A., Barbarossa, A., Fazio, A., Torre, C. La, Ceramella, J., Mallamaci, R., Saturnino, C., Iacopetta, D., & Sinicropi, M. S. (2019).  $\beta$ -Caryophyllene: A Sesquiterpene with Countless Biological Properties. *Applied Sciences* 2019, Vol. 9, 9(24). <https://doi.org/10.3390/APP9245420>

Grari, O., Ezrari, S., El Yandouzi, I., Benaissa, E., Ben Lahlou, Y., Lahmer, M., Saddari, A., Elouennass, M., & Maleb, A. (2025). A comprehensive review on biofilm-associated infections: Mechanisms, diagnostic challenges, and innovative therapeutic strategies. *The Microbe*, 8, 100436. <https://doi.org/10.1016/J.MICROB.2025.100436>

Hernández, A. (2025, febrero 4). *Biofilms What Are They, Formation, Removal, and More*. Osmosis From Elseiver. <https://www.osmosis.org/answers/biofilm>

- Herrera, M., & Villegas, A. (2017). *Estudio de la composición química, actividad antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial proveniente de la corteza de la Ocotea quixos (Lam) Kosterm.* [Universidad Politécnica Salesiana].  
<http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/13846>
- Hossain, T. J. (2024). Methods for screening and evaluation of antimicrobial activity: A review of protocols, advantages, and limitations. *European Journal of Microbiology & Immunology*, 14(2), 97. <https://doi.org/10.1556/1886.2024.00035>
- Huaraca, N. (2024). *Actividad antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de Schinus molle L. "molle"*. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.  
<https://repositorio.unsch.edu.pe/handle/20.500.14612/7450>
- Iskandar, K., Ahmed, N., Paudyal, N., Alvarez, M.-J. R., Balasubramani, S. P., Saadeh, D., Baig, S. U., Sami, H., Halat, D. H., Pavlović, N., Roques, C., Rizvi, M., Salameh, P., Hamed, F., Dongen, M. Van, Iskandar, K., Ahmed, N., Paudyal, N., Alvarez, M.-J. R., ... Dongen, M. Van. (2025). Essential Oils as Antimicrobial Agents Against WHO Priority Bacterial Pathogens: A Strategic Review of In Vitro Clinical Efficacy, Innovations and Research Gaps. *Antibiotics* 2025, Vol. 14, 14(12), 1250.  
<https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS14121250>
- Jesionek, W., Móricz, Á. M., Alberti, Á., Ott, P. G., Kocsis, B., Horváth, G., & Choma, I. M. (2015). TLC-Direct Bioautography as a Bioassay Guided Method for Investigation of Antibacterial Compounds in *Hypericum perforatum* L. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 98(4), 1013-1020. <https://doi.org/10.5740/JAOACINT.14-233>
- Kadeřábková, N., Mahmood, A. J. S., & Mavridou, D. A. I. (2024). Antibiotic susceptibility testing using minimum inhibitory concentration (MIC) assays. *npj Antimicrobials and Resistance* 2024 2:1, 2(1), 37-. <https://doi.org/10.1038/s44259-024-00051-6>

- Kalia, V. C., Patel, S. K. S., & Lee, J. K. (2023). Bacterial biofilm inhibitors: An overview. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 264, 115389.  
<https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2023.115389>
- Kamimura, R., Kanematsu, H., Ogawa, A., Kogo, T., Miura, H., Kawai, R., Hirai, N., Kato, T., Yoshitake, M., & Barry, D. M. (2022). Quantitative Analyses of Biofilm by Using Crystal Violet Staining and Optical Reflection. *Materials (Basel, Switzerland)*, 15(19).  
<https://doi.org/10.3390/MA15196727>
- Kong, A. S.-Y., Maran, S., Yap, P. S.-X., Lim, S.-H. E., Yang, S.-K., Cheng, W.-H., Tan, Y.-H., Lai, K.-S., Kong, A. S.-Y., Maran, S., Yap, P. S.-X., Lim, S.-H. E., Yang, S.-K., Cheng, W.-H., Tan, Y.-H., & Lai, K.-S. (2022). Anti- and Pro-Oxidant Properties of Essential Oils against Antimicrobial Resistance. *Antioxidants 2022, Vol. 11, 11(9)*.  
<https://doi.org/10.3390/ANTIOX11091819>
- Kosari, F., Taheri, M., Moradi, A., Hakimi Alni, R., & Alikhani, M. Y. (2020). Evaluation of cinnamon extract effects on *clbB* gene expression and biofilm formation in *Escherichia coli* strains isolated from colon cancer patients. *BMC cancer*, 20(1).  
<https://doi.org/10.1186/S12885-020-06736-1>
- Kowalska, T., & Sajewicz, M. (2022). Thin-Layer Chromatography (TLC) in the Screening of Botanicals—Its Versatile Potential and Selected Applications. *Molecules 2022, Vol. 27, 27(19)*. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES27196607>
- Lalangui, G., & Palacios, E. (2021). Efecto inhibitorio del aceite esencial de *Schinus molle* a diferentes tiempos y concentraciones, sobre *Cándida albicans*. *RECIMUNDO*, 5(2), 398-406. [https://doi.org/10.26820/recimundo/5.\(2\).abril.2021.398-406](https://doi.org/10.26820/recimundo/5.(2).abril.2021.398-406)
- Li, D., & Liu, S. (2019). Water Quality Monitoring in Aquaculture. *Water Quality Monitoring and Management*, 303-328. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811330-1.00012-0>

- Lin, H., Li, Z., Sun, Y., Zhang, Y., Wang, S., Zhang, Q., Cai, T., Xiang, W., Zeng, C., & Tang, J. (2024). D-Limonene: Promising and Sustainable Natural Bioactive Compound. *Applied Sciences* 2024, Vol. 14, 14(11). <https://doi.org/10.3390/APP14114605>
- Logroño, J. (2021). *Ishpingo (Ocotea quixos) como fuente de aceite esencial para su uso en la industria alimentaria*. [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <https://dspace.esPOCH.edu.ec:8080/server/api/core/bitstreams/41625d64-0a90-4d2b-a89b-20d6c2f443bf/content>
- López, J. F. (2025). *Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana del extracto de Cannabis sativa L. En cepas resistentes de Staphylococcus aureus (MRSA) analizadas en INSPI CZ6, Ecuador*. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/31446>
- López, L. (2013). *Eficacia in vitro de un desinfectante de uso agroindustrial elaborado a base de aceite esencial de Ishpink (Ocotea quixos Lam. Kosterm)*. <https://repositorio.uea.edu.ec/handle/123456789/645>
- Machado, C. D., Raman, V., Rehman, J. U., Maia, B. H. L. N. S., Meneghetti, E. K., Almeida, V. P., Silva, R. Z., Farago, P. V., Khan, I. A., & Budel, J. M. (2019). Schinus molle: anatomy of leaves and stems, chemical composition and insecticidal activities of volatile oil against bed bug (*Cimex lectularius*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.10.005>
- Mahadevarao ; Sujatha, & Zubair, M. (2024). Chromatography. *Handbook of Biomolecules: Fundamentals, Properties and Applications*, 217-225. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91684-4.00032-3>
- Marchiani, S., Baccani, I., Tamburrino, L., Mattiuz, G., Nicolò, S., Bonaiuto, C., Panico, C., Vignozzi, L., Antonelli, A., Rossolini, G., Torcia, M., & Baldi, E. (2021). Effects of common Gram-negative pathogens causing male genitourinary-tract infections on

human sperm functions. *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1), 19177-.

<https://doi.org/10.1038/s41598-021-98710-5>

Mariani, E., Enemark, G. K. G., Juncos, N. S., Cravero, C. F., & Olmedo, R. H. (2025). The pinene-to-five principal components ratio in *Schinus molle* L. essential oil as an antioxidant activity indicator. *Food Chemistry*, 486.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144653>

Martins, M. D. R., Arantes, S., Candeias, F., Tinoco, M. T., & Cruz-Morais, J. (2014).

Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*, 151(1), 485-492.

<https://doi.org/10.1016/J.JEP.2013.10.063>

Medina, R., Luis, J., LastNameOré, B., & Vargas, D. E. (2021). Efficient and sustainable improvement of a system of production and commercialization of Essential Molle Oil (*Schinus Molle*). *3c Empresa: investigación y pensamiento crítico*, ISSN-e 2254-3376, Vol. 10, Nº. 4, 2021, págs. 43-75, 10(4), 43-75.

<https://doi.org/10.17993/3cemp.2021.100448.43-75>

Miller, M. (2025, agosto 5). *Entender El Ensayo De Violeta De Cristal Para Biofilm: Una Guía Completa – #1 Recurso En Línea*. <https://aetherial.org/understanding-the-crystal-violet-assay-for-biofilm-a-comprehensive-guide/>

Ministerio de Salud Pública del Ecuador. (2020). *MSP presentó Código de Ética de la medicina ancestral-tradicional de las nacionalidades y pueblos del Ecuador – Ministerio de Salud Pública*. <https://www.salud.gob.ec/msp-presento-codigo-de-etica-de-la-medicina-ancestral-tradicional-de-las-nacionalidades-y-pueblos-del-ecuador/>

Mirković, S., Martinović, M., Tadić, V. M., Nešić, I., Jovanović, A. S., Žugić, A., Mirković, S., Martinović, M., Tadić, V. M., Nešić, I., Jovanović, A. S., & Žugić, A. (2025).

Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils from Selected *Pinus* Species

from Bosnia and Herzegovina. *Antibiotics* 2025, Vol. 14, 14(7).

<https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS14070677>

Montalván, M., Malagón, O., Cumbicus, N., Tanitana, F., & Gilardoni, G. (2023).

CHEMICAL ANALYSIS OF AMAZONIAN ESSENTIAL OILS OF AN  
ECUADORIAN SHUAR COMMUNITY. *Granja*, 38(2), 32-44.

<https://doi.org/10.17163/LGR.N38.2023.03>

Montalván, M., Malagón, O., Cumbicus, N., Tanitana, F., Gilardoni, G., Montalván, M.,

Malagón, O., Cumbicus, N., Tanitana, F., & Gilardoni, G. (2023). Análisis químico de  
aceites esenciales amazónicos de una comunidad Shuar ecuatoriana. *LA GRANJA*.

*Revista de Ciencias de la Vida* , 38(2), 33-45.

<https://doi.org/10.17163/LGR.N38.2023.03>

Moo, C. L., Osman, M. A., Yang, S. K., Yap, W. S., Ismail, S., Lim, S. H. E., Chong, C. M.,

& Lai, K. S. (2021). Antimicrobial activity and mode of action of 1,8-cineol against  
carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Scientific Reports* 2021 11:1, 11(1),

20824-. <https://doi.org/10.1038/S41598-021-00249-Y>

Móricz, Á. M., & Ott, P. G. (2015). Direct Bioautography as a High-Throughput Screening

Method for the Detection of Antibacterial Components from Plant Sources. *Journal of  
AOAC INTERNATIONAL*, 98(4), 850-856. [https://doi.org/10.5740/JAOACINT.SGE1-](https://doi.org/10.5740/JAOACINT.SGE1-MORICZ)

MORICZ

Mueller, M., Rausch-Phung, E. A., & Tainter, C. R. (2025). *Escherichia coli* Infection.

*Encyclopedia of Toxicology, Fourth Edition: Volume 1-9, 4*, V4-357-V4-367.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00190-1>

Muhammad, A., Muhammad, S., & Negero, G. (s. f.). *Calculation of percent inhibition of  
bacteria ?* | *ResearchGate*. Recuperado 9 de febrero de 2026, de

<https://www.researchgate.net/post/Calculation-of-percent-inhibition-of-bacteria>

Muñoz, A. (2024). *¿Sabes qué es el ishpingo? - by Agatha Muñoz*. Pásame la Sal.

<https://agathasaltfilm.substack.com/p/sabes-que-es-el-ishpingo>

Murrieta-Dionicio, U., Medrano-Hernández, J. M., Guerra-Ramírez, D., Valle-Guadarrama, S., Murrieta-Dionicio, U., Medrano-Hernández, J. M., Guerra-Ramírez, D., & Valle-Guadarrama, S. (2023). Composición de aceite esencial de hojas de *Schinus molle* L. afectada por el tiempo de extracción y escalamiento del proceso. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 29(2), 25-40.

<https://doi.org/10.5154/R.RCHSCFA.2022.04.027>

Noriega, P. (2016). *Essential oils : historical significance, chemical composition, and medicinal uses and benefits*.

[https://www.researchgate.net/publication/304540401\\_Ishpink\\_Ocotea\\_quixos\\_Lam\\_Ko\\_sterm\\_History\\_Traditional\\_Uses\\_Chemical\\_Pharmacological\\_Properties\\_and\\_the\\_Economic\\_Potential\\_of\\_its\\_Essentials\\_Oils\\_Present\\_within\\_this\\_Amazonian\\_Species](https://www.researchgate.net/publication/304540401_Ishpink_Ocotea_quixos_Lam_Ko_sterm_History_Traditional_Uses_Chemical_Pharmacological_Properties_and_the_Economic_Potential_of_its_Essentials_Oils_Present_within_this_Amazonian_Species)

Noriega, P., Dacarro, C., & Granja, L. (2008). Aceite foliar de *Ocotea quixos* (Lam.)

Kosterm.: actividad antimicrobiana y antifúngica. *La Granja*, 7(1), 3-8.

<https://doi.org/10.17163/LGR.N7.2008.01>

Noriega, P., Mosquera, T., Paredes, E., Parra, M., Zappia, M., Herrera, M., Villegas, A., &

Osorio, E. (2018). Antimicrobial and antioxidant bioautography activity of bark essential oil from *ocotea quixos* (lam.) kosterm. *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*, 31(2), 163-168.

<https://doi.org/https://link.springer.com/article/10.1556/1006.2018.31.2.11>

Orellana, D. (2025). *Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de Stachys Byzantina K. Koch frente a Staphylococcus aureus y Escherichia coli*

[Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/31858>

- Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D., & Oreopoulou, V. (2019). Extraction of Polyphenols From Aromatic and Medicinal Plants: An Overview of the Methods and the Effect of Extraction Parameters. *Polyphenols in Plants*, 243-259. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00025-6>
- Ormaza Pinos, A. P., & Parra Román, E. E. (2024). *Determinación de la actividad antimicrobiana de Curcuma longa, Cymbopogon citratus, Zingiber officinale y Ocotea quixos, frente a Streptococcus mutans*. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/28884/1/UPS-CT011737.pdf>
- Ortiz, F., Galeano, P., & Silva, Y. (2018). Chemical composition and antioxidant and antibacterial activity of Ocotea quixos. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 23(4). <https://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/562/333>
- Oses, R., Ferrando, M., Bruna, F., Retamales, P., Navarro, M., Fernández, K., Vera, W., Larrazábal, M. J., Neira, I., Paredes, A., Osorio, M., Yáñez, O., Jacobs, M., & Bravo, J. (2025). Exploring the Bioactive Potential and Chemical Profile of Schinus molle Essential Oil: An Integrated In Silico and In Vitro Evaluation. *Plants*, 14(15). <https://doi.org/10.3390/PLANTS14152449/S1>
- Radice, M., Pietrantoni, A., Guerrini, A., Tacchini, M., Sacchetti, G., Chiurato, M., Venturi, G., & Fortuna, C. (2019). Inhibitory effect of Ocotea quixos (Lam.) Kosterm. and Piper aduncum L. essential oils from Ecuador on West Nile virus infection. *Plant Biosystems- An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 153(3), 344-351. <https://doi.org/10.1080/11263504.2018.1478902>
- Ramallo, I. A., Gago, G., Gramajo, H., & Furlan, R. L. E. (2025). Bioautographic method for detecting natural preservatives against Mycobacterium in edible essential oils. *Food Control*, 174, 111224. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2025.111224>

- Ramírez, J., & Eckhard, U. (2022). An Introduction to Bacterial Biofilms and Their Proteases, and Their Roles in Host Infection and Immune Evasion. *Biomolecules* 2022, Vol. 12, 12(2). <https://doi.org/10.3390/BIOM12020306>
- Ramos, E., & Ramos, Y. (2024). *Efecto antibacteriano in vitro de la resina de schinus molle l. (molle) frente a cepas de staphylococcus aureus atcc 25923* [Universidad María Auxilidora]. <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/2324>
- Rendón, V., Puentestar, C., Goyes, M., & Medina, G. (2021). Las plantas medicinales y su uso en las parroquias rurales. *JOURNAL OF SCIENCE AND RESEARCH*, 6. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5803698>
- Rodríguez-Díaz, M., & Rebolledo, V. (2022). Descubriendo la nobleza del molle, un árbol de nuestra América. En *Cuad Méd Soc (Chile) 2021* (Vol. 61). <http://www.enersis>.
- Romero, O., Perilla, J., Cedeño, S., Tapiero, J., & Tamayo, J. (2022). Ancestral traditional medicine in the Ecuadorian health system. *Sapienza*, 3(8), 272-286. <https://doi.org/10.51798/sijis.v3i8.587>
- Roshni, P. T., & Rekha, P. D. (2024). Essential oils: a potential alternative with promising active ingredients for pharmaceutical formulations in chronic wound management. *Inflammopharmacology* 2024 32:6, 32(6), 3611-3630. <https://doi.org/10.1007/S10787-024-01571-3>
- Ruiz Quiroz, J. R., Salazar Salvatierra, M. E., Ruiz Quiroz, J. R., & Salazar Salvatierra, M. E. (2021). Composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Citrus paradisi*, *Juglans neotropica* DIELS, *Schinus molle* y *Tagetes elliptica* Smith. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 87(3), 228-241. <https://doi.org/10.37761/RSQP.V87I3.350>
- Salem, M. Z. M., Zayed, M. Z., Ali, H. M., & Abd El-Kareem, M. S. M. (2016). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Schinus molle*

wood branch growing in Egypt. *Journal of Wood Science*, 62(6), 548-561.

<https://doi.org/10.1007/S10086-016-1583-2/TABLES/7>

Sauer, K., Stoodley, P., Goeres, D. M., Hall-Stoodley, L., Burmølle, M., Stewart, P. S., & Bjarnsholt, T. (2022). The biofilm life cycle—expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature reviews. Microbiology*, 20(10), 608.

<https://doi.org/10.1038/S41579-022-00767-0>

Scotti, R., Stringaro, A., Nicolini, L., Zanellato, M., Boccia, P., Maggi, F., & Gabbianelli, R. (2021). Effects of Essential Oils from *Cymbopogon* spp. and *Cinnamomum verum* on Biofilm and Virulence Properties of *Escherichia coli* O157:H7. *Antibiotics*, 10(2), 113.

<https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS10020113>

Shehata, M., Gamal M, E.-S., Sharaf, M. H., Kalaba, M. H., & Shaban, A. S. (2025).

Phytochemical analysis, antimicrobial, antioxidant, and cytotoxicity activities of *Schinus molle* (L.) extracts. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 15(3), 3753-3770.

<https://doi.org/10.1007/S13399-024-05301-1/FIGURES/6>

Shree, P., Singh, C. K., Sodhi, K. K., Surya, J. N., & Singh, D. K. (2023). Biofilms:

Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics.

*Medicine in Microecology*, 16, 100084.

<https://doi.org/10.1016/J.MEDMIC.2023.100084>

Silva, B. N., Bonilla-Luque, O. M., Possas, A., Ezzaky, Y., Elmoslih, A., Teixeira, J. A.,

Achemchem, F., Valero, A., Cadavez, V., & Gonzales-Barron, U. (2023). Meta-Analysis

of In Vitro Antimicrobial Capacity of Extracts and Essential Oils of

*Syzygium aromaticum*, *Citrus L.* and *Origanum L.*: Contrasting the Results of Different Antimicrobial Susceptibility Methods. *Foods 2023, Vol. 12*, 12(6).

<https://doi.org/10.3390/FOODS12061265>

- Sotalín, Y. (2025). *Aproximación de las actividades biológicas del aceite esencial de Curcuma longa en función de perfiles químicos encontrados en Ecuador*.  
<http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/30832>
- Tabti, S., Boukraâ, D., Hadjab, W., Belhadj, O. K., Khelef, Y., Truchado, P., Martínez-Alcalá, I., Erenler, R., Sami, R., Alyamani, A., Alsulaimani, F., Basri, A. M., Kadi, R. H., & Alnajeebi, A. M. (2025). Antibacterial and QS Inhibition by Schinus molle Essential Oil: Chemical Profiling and Docking Against *S. aureus*. *Clinical Laboratory*, 71(8), 1574-1590. <https://doi.org/10.7754/CLIN.LAB.2025.250461>
- Tao, J. J., Xiang, J. J., Jiang, M., Kuang, S. F., Peng, X. X., & Li, H. (2022). A Microtitre Plate Dilution Method for Minimum Killing Concentration Is Developed to Evaluate Metabolites-Enabled Killing of Bacteria by  $\beta$ -lactam Antibiotics. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9, 878651. <https://doi.org/10.3389/FMOLB.2022.878651>
- Tariq, S., Wani, S., Rasool, W., Shafi, K., Bhat, M. A., Prabhakar, A., Shalla, A. H., & 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>
- Thangaleela, S., Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., Bharathi, M., Kunaviktikul, W., Klunklin, A., Chanthapoon, C., Chaiyasut, C., Thangaleela, S., Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., Bharathi, M., Kunaviktikul, W., Klunklin, A., Chanthapoon, C., & Chaiyasut, C. (2022). Essential Oils, Phytoncides, Aromachology, and Aromatherapy—A Review. *Applied Sciences* 2022, Vol. 12, 12(9). <https://doi.org/10.3390/APP12094495>
- Thangaleela, S., Sivamaruthi, B. S., Kesika, P., Tiyaamorn, T., Bharathi, M., & Chaiyasut, C. (2022). A Narrative Review on the Bioactivity and Health Benefits of Alpha-

Phellandrene. *Scientia Pharmaceutica* 2022, Vol. 90, 90(4).

<https://doi.org/10.3390/SCIPHARM90040057>

Thidar, O., Saiboonjan, B., Srijampa, S., Srisrattakarn, A., Sutthanut, K., Tavichakorntrakool, R., Chanawong, A., Lulitanond, A., & Tippayawat, P. (2021). Inhibition of Bacterial Efflux Pumps by Crude Extracts and Essential Oil from *Myristica fragrans* Houtt. (Nutmeg) Seeds against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules* 2021, Vol. 26, 26(15). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26154662>

Thongjuy, O., Boonmasawai, S., Sungpradit, S., Charoonrut, P., Homyog, K., Sresuwadjarey, P., Jooypan, T., Photcharatinnakorn, P., Nutakom, S., & Leesombun, A. (2025). Innovative essential oil formulations for in vitro inhibition of Biofilm-Forming Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* isolated from canine infectious diarrhea. *Veterinary research communications*, 50(1), 76. <https://doi.org/10.1007/S11259-025-11000-7>

Universidad de la Islas Baleares. (s. f.). *Schinus molle* L. - *Herbari Virtual del Mediterrani Occidental*. Herbari Virtual del Mediterrani Occidental. Recuperado 6 de febrero de 2026, de <https://herbarivirtual.uib.es/es/general/463/especie/schinus-molle-1>

Valarezo, E., Vullien, A., Conde-Rojas, D., Valarezo, E., Vullien, A., & Conde-Rojas, D. (2021). Variability of the Chemical Composition of the Essential Oil from the Amazonian Ishpingo Species (*Ocotea quixos*). *Molecules* 2021, Vol. 26, 26(13). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26133961>

Vanegas, D., Novillo, A., Khachatryan, A., Jerves, L., Peñaherrera, E., Cuzco, N., Wilches, I., Calle, J., & León, F. (2021). Validation of a method of broth microdilution for the determination of antibacterial activity of essential oils. *BMC Research Notes*, 14(1), 439-. <https://doi.org/10.1186/S13104-021-05838-8/FIGURES/1>

- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). Plant Drug Analysis. En *Plant Drug Analysis* (Segunda Edición). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9>
- Wang, M., Zhang, Y., Wang, R., Wang, Z., Yang, B., & Kuang, H. (2021). An Evolving Technology That Integrates Classical Methods with Continuous Technological Developments: Thin-Layer Chromatography Bioautography. *Molecules*, 26(15), 4647. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26154647>
- Weiss, E. (1996). Essential Oil Crops. *Essential Oil Crops*. <https://doi.org/10.1079/9780851991375.0000>
- Wińska, K., Mączka, W., Łyczko, J., Grabarczyk, M., Czubaszek, A., & Szumny, A. (2019). Essential Oils as Antimicrobial Agents—Myth or Real Alternative? *Molecules*, 24(11), 2130. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24112130>
- Wu, K., Zhang, T., Chai, X., Wang, P., Duan, X., & Hu, H. (2025). Antibacterial properties and mechanism of 2-methoxycinnamaldehyde against *Salmonella enteritidis* and its potential application in treating raw pork. *LWT*, 217, 117449. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2025.117449>

## Apéndices y anexos

### Anexo A

#### Ficha técnica del aceite esencial de *Schinus molle* (molle).

FICHA TÉCNICA		AROMAVIDA® <small>EL UNIVERSO ORGANICO</small>
GENERALIDADES :	NOMBRE :	Ac.Esencial Molle 10ml
CÓDIGO :PAES20-010	NOMBRE CIENTÍFICO :	Schinus molle
	NOMBRE COMÚN :	Ac.Esencial Molle 10ml
	COMMON NAME :	False peppertree
	CAS :	68917-52-2 / 94334-31-3
	EC :	305-104-2
	PRESENTACIÓN :	10 mL
	USO :	Ingrediente para productos múltiples. Siempre diluir antes de utilizar.
	INGREDIENTES INCI :	100% Schinus molle oil
PRECAUCIONES :	No usar sin diluir. Evitar contacto con ojos y mucosas. Conservar en un lugar fresco, seco y oscuro. Mantener fuera del alcance de los niños.	
DESCRIPCIÓN GENERAL :	Aceite esencial 100% puro obtenido de la destilación de las plantas por arrastre de vapor. Se trata de un aceite esencial totalmente natural sin aditivos químicos y de plantas libres de organismos genéticamente modificados (OGM).	
ORGANOLÉPTICOS :		
ASPECTO :	Fluido y límpido	
COLOR :	Amarillo claro, Amarillo oscuro	
OLOR :	Dulce-especiado, leve nota floral, suave, característico de molle, Fresco, Aromático, matiz amaderad	
SABOR :	N/A	
FISICOQUÍMICOS :		
DENSIDAD RELATIVA :	0.840 - 0.890	
ÍNDICE DE REFRACCIÓN :	1.477 - 1.482	
BRIX :	74.6 - 76.6 %	
pH:	N/A	
COMPONENTES PRINCIPALES :	alpha-PHELLANDRENE, LIMONENE, beta-PHELLANDRENE, beta-MYRCENE, SABINENE	
OTRA INFORMACIÓN :		
FAMILIA BOTÁNICA :	Anacardiaceae	
PARTE PROCESADA :	Fruto y hojas	
TIPO DE PRODUCTO :	Aceite esencial	
TIPO DE CULTIVO :	Silvestre	
MÉTODO DE FABRICACIÓN :	Destilación por arrastre de vapor	
COSING :		
NOMBRE INCI :	Schinus molle oil	
FUNCIONES :	FRAGRANCE	
DESCRIPCIÓN :	Schinus Molle Oil is the oil expressed from the fruit of the American Pepper, Schinus molle L., Theaceae	
RESTRICCIONES :	N/A	
GRUPO DE RIESGO PRINCIPAL :	Personas con historia de alergia a los aceites esenciales o a la planta de este aceite.	

Fuente: Aromavida

**Anexo B**

*Primera página del análisis GC/MS del aceite de Schinus molle (molle).*

Tableau des résultats : SCHINUS MOLLE EQUATEUR LOT N° 2804					
Pics	TR (min)	Constituants	%	Norme (%)	Allergènes (%)
1	7.08	TRICYCLENES	0.62		
2	7.46	<b>alpha-PINENE</b>	<b>3.67</b>		
3	7.47	alpha-THUYENE	0.18		
4	8.71	<b>CAMPHENE</b>	<b>3.65</b>		
5	10.36	beta-PINENE	1.62		
6	11.08	SABINENE	1.36		
7		<b>beta-MYRCENE</b>			
8	13.76	alpha-PHELLANDRENE	<b>38.93</b>		
9	13.77	psi-LIMONENE	0.11		
10	14.41	alpha-TERPINENE	0.08		
11	15.66	<b>LIMONENE</b>	<b>8.82</b>		8.82
12	16.14	<b>beta-PHELLANDRENE</b>	<b>8.27</b>		
13	18.59	gamma-TERPINENE	0.09		
14	19.20	Trans-beta-OCIMENE	0.04		
15	19.96	p-CYMENE	1.15		
16	21.00	TERPINOLENE	0.10		
17	23.32	4,8-DIMETHYL-1,3,7-NONATRIENE	0.02		
18	28.77	CAPRYLATE DE METHYLE	0.14		
19	33.55	ESTER ALIPHATIQUE	0.01		
20	34.04	alpha-CUBEBENE	0.02		
21	34.61	SESQUITERPENE	0.02		
22	35.09	BICYCLOELEMENE	0.17		
23	36.33	alpha-COPAENE	0.06		
24	38.10	alpha-GURJUNENE	0.81		
25	38.51	ESTER ALIPHATIQUE	0.03		
26	38.84	SESQUITERPENE	0.03		
27	39.09	SESQUITERPENE	0.06		
28	39.98	Trans-p-MENTH-2-EN-1-OL	0.02		
29	40.69	ACETATE DE BORNYLE	0.15		
30	41.37	ELEMENE ISOMERE	0.06		
31	41.81	ESTER ALIPHATIQUE	0.02		
32	42.26	beta-ELEMENE	0.95		
33	42.27	<b>beta-CARYOPHYLLENE</b>	<b>3.31</b>		
34	42.46	TERPINENE-4-OL	0.15		
35	43.06	AROMADENDRENE	0.02		
36	43.33	COMPOSE AROMATIQUE	0.06		
37	43.88	SESQUITERPENE	0.01		
38	44.03	SESQUITERPENE	0.05		
39	44.72	CADINA-3,5-DIENE	0.05		
40	45.19	GERMACRENE A	0.01		
41	45.34	ALLO-AROMADENDRENE	0.27		
42	46.26	ZONARENE	0.05		
43	46.65	alpha-HUMULENE	0.75		
44	47.08	Cis-4,5-MUJROLADIENE	0.07		
45	47.86	gamma-MUJROLENE	0.19		
46	48.29	SESQUITERPENE	0.01		
47	48.45	LEDENE	0.10		
48	48.61	BORNEOL	0.06		
49	49.20	GERMACRENE D	0.51		
50	49.46	beta-SELINENE	0.01		
51	49.58	SESQUITERPENE	0.11		
52	49.65	alpha-SELINENE	0.07		
53	50.27	alpha-MUJROLENE	0.44		
54	50.48	<b>BICYCLOGERMACRENE</b>	<b>4.18</b>		

Fuente: Aromavida (2025)

## Anexo C

Segunda página del análisis GC/MS del aceite de Schinus molle (molle).

Tableau des résultats : SCHINUS MOLLE EQUATEUR LOT N° 2804					
Pics	TR (min)	Constituants	%	Norme (%)	Allergènes (%)
55	51.74	delta-CADINENE	2.63		
56	51.87	gamma-CADINENE	0.43		
57	52.12	SESQUITERPENE	0.22		
58	53.50	CADINA-1,4-DIENE	0.04		
59	53.99	alpha-AMORPHENE	0.13		
60	54.93	Cis-SABINOL	0.04		
61	55.25	SESQUITERPENE	0.05		
62	55.80	COMPOSE CETONIQUE Mw=126	0.02		
63	55.97	CALAMENENE	0.02		
64	59.04	SESQUITERPENE	0.01		
65	59.38	Epi-CUBEBOL	0.16		
66	59.39	BUTYRATE DE GERANYLE	0.02		
67	61.29	6-epi-SHYOBUNOL ISOMERE	0.42		
68	61.55	PALUSTROL	0.23		
69	62.09	CUBEBOL	0.21		
70	63.57	SESQUITERPENOL	0.02		
71	63.91	OXYDE DE CARYOPHYLLENE	0.05		
72	64.28	SESQUITERPENOL	0.02		
73	65.93	ESTER ALIPHATIQUE	0.02		
74	66.15	SESQUITERPENOL	0.49		
75	66.51	SESQUITERPENOL	0.02		
76	66.52	LEDOL	0.24		
77	66.83	SESQUITERPENOL	0.04		
78	67.37	GERMACRENE D-4-OL	1.62		
79	67.60	Épi-CUBENOL	0.06		
80	67.68	CUBENOL	0.11		
81	68.08	GLOBULOL	0.09		
82	68.82	ELEMOL	3.74		
83	68.96	VIRIDIFLOROL	0.30		
84	69.50	CAPROATE DE NERYLE	0.02		
85	69.70	10-épi-gamma-EUDESOL	0.03		
86	70.99	SPATHULENOL	0.29		
87	73.05	gamma-EUDESOL	0.30		
88	73.06	T-CADINOL	0.38		
89	73.24	AGAROSPIROL	0.02		
90	73.75	SESQUITERPENOL	0.18		
91	73.89	alpha-MUUROLOL	0.63		
92	74.39	delta-CADINOL	0.15		
93	74.57	CARVACROL	0.01		
94	74.93	SESQUITERPENOL	0.03		
95	75.15	GERANYLGERANIADIENE	0.03		
96	75.38	SESQUITERPENOL	0.13		
97	75.66	alpha-EUDESOL	0.43		
98	75.90	beta-EUDESOL	0.55		
99	75.91	alpha-CADINOL	1.12		
100	79.97	6-Épi-SHYOBUNOL	2.26		
101	80.76	EPOXYDE SESQUITERPENIQUE	0.05		
102	81.85	SESQUITERPENOL	0.02		
103	82.27	SESQUITERPENOL	0.05		
104	82.96	COMPOSE ALCOOL	0.07		
105	86.85	ACIDE LAURIQUE	0.03		
106	90.06	EPOXYDE SESQUITERPENIQUE	0.03		
		<b>TOTAL</b>	<b>99.99</b>		<b>8.82</b>

Fuente: Aromavida (2025)

## Anexo D

Primera página de la ficha técnica del aceite de *Ocotea quixos* (ishpingo).

# FICHA TÉCNICA



Fundación Chankuap, Dirección: Vidal Rivadeneira y Hernando de Benavente, Macas – Ecuador EC140150; Telf.: (593)7-2701763, e-mail: chankuap@mo.pro.ec. Para mayor información contactar: Área de Transformación de productos

## ACEITE ESENCIAL ISHPINK

(ISHPINK ESSENTIAL OIL)

### 1. Descripción

El aceite esencial de ishpink es un producto obtenido de las hojas y cálices florales de la planta *Ocotea quixos* por medio de una destilación por arrastre de vapor.

Se trata de un aceite esencial totalmente natural sin aditivos químicos.

### 2. Aplicaciones

Ingrediente natural para cosméticos (Aroma)

### 3. Especificaciones

**INCI name (sugerido):** Ocotea quixos

**CAS No.:** No disponible

**EINECS No.:** No disponible

COMPUESTO	% Id	COMPUESTO	% Id	COMPUESTO	% Id
Cardeno	0,124	Mosleno	0,582	Gurjuneno	0,735
Alpha pinene	4,121	Linanool	1,213	Caryophyllene	11,785
Benzaldehyde	1,599	3 phenyl propanal	0,321	Cinnamyl acetate	13,943
1R- alpha pinene	2,263	4 terpineol	0,806	Alpha caryophyllene	7,245
Bicyclo heptane	4,773	Alpha terpineol	0,690	Isoeugenol methyl ester	0,658
Terpinolene	0,375	Cinnamal	13,042	Azulenes	2,763
Cymene	0,206	Alpha cubeno	0,282	Cardineno	0,664
Camphene	1,694	Copaeno	2,560	Caryophyllene oxide	4,044
Eucalyptol	4,811	Methyl cinnamate	4,992		
Benzyl benzoate	0,567				

GC-MS Estudio de la Universidad de Ferrara (Italia)

DATO DE ANÁLISIS	RANGO	MÉTODO
Apariencia Visual	Líquido aceitoso transparente	Visual
Color	Ligeramente amarillo	Visual
Olor	Típica nota a canela	Olor
Densidad (g/ml)	0.82 – 0.92	<841>USP
Índice de Refracción	1.520 – 1.530	<831>USP
Índice de Acidez (%)	Max. 1.2	Método Interno
Solubilidad en alcohol	Completamente soluble en alcohol 96°	Método Interno
Cinnamal (%)	11.0 – 13.5	GC-MS
Caryophyllene (%)	9.5 – 12.0	GC-MS
Cinnamyl acetate (%)	13.5 – 15.0	GC-MS

Fuente: Proyecto Chankuap (2025)

## Anexo E

Segunda página de la ficha técnica del aceite de *Ocotea quixos* (ishpingo).

## FICHA TÉCNICA



Fundación Chankuap', Dirección: Vidal Rivadeneira y Hernando de Benavente, Macas – Ecuador EC140150; Telf.: (593)7-2701763, e-mail: chankuap@mo.pro.ec. Para mayor información contactar: Área de Transformación de productos

### 4. Parte de la planta utilizada

Hojas de Ocotea quixos

### 5. Vida Útil

24 meses a partir de la fecha de producción. Al final del periodo de caducidad es aconsejable reanalizar el lote, si el lote cumple con los parámetros de calidad se puede seguir utilizando el producto.

### 6. Descripción de la Planta

El ishpink es una planta arbórea perenne dicotiledónea que pertenece a la familia de las Lauraceae, género Ocotea, especie quixos.

### 7. Condiciones de Almacenamiento

Asegure buena ventilación, protéjase de la exposición directa a la luz.  
Manténgase alejado de las Fuentes de ignición. No fumar.  
Manténgase en contenedores estrechamente sellados.

### 8. Estándares de Empaque

El producto es empacado en botellas de vidrio ámbar (el volumen: de acuerdo con el pedido)

### 9. Uso Tradicional de la Planta

Se emplean los cálices, que igualmente poseen aceite esencial para calmar los dolores del parto y luego de este aliviar las molestias luego del mismo (fuente indígena).

### 10. ASPECTOS SOCIALES Y MISIÓN DE FUNDACIÓN CHANKUAP'

La Fundación Chankuap' es una ONG (Organización No Gubernamental) sin fines de lucro. El centro de acopio de Chankuap' se encarga de la recolección de la materia prima vegetal y de la producción de la especia.

Cada producto es el fruto del trabajo de las comunidades amazónicas Shuar, Achuar y Colono mestiza de Morona Santiago al Sur del Ecuador y se inserta en una clara voluntad de valorización de los recursos locales.

Fuente: Proyecto Chankuap (2025)

## Anexo F

Datos obtenidos de la absorbancia de Schinus molle frente a Escherichia coli ATCC 25922

Réplica	Repetición	Absorbancia	Tratamientos	Absorbancia control	Capacidad mínima
				positivo	inhibitoria
					µg/mL
1	1	0.123	T1	1.032	
1	2	0.13	T1	1.119	
1	3	0.161	T1	1.121	
2	1	0.157	T1	1.051	4000
2	2	0.176	T1	1.053	
2	3	0.162	T1	1.125	
3	1	0.118	T1	1.093	
3	2	0.167	T1	1.088	
3	3	0.12	T1	1.107	
1	1	0.152	T2	1.032	
1	2	0.164	T2	1.119	
1	3	0.157	T2	1.121	
2	1	0.177	T2	1.051	2000
2	2	0.166	T2	1.053	
2	3	0.214	T2	1.125	
3	1	0.129	T2	1.093	
3	2	0.146	T2	1.088	
3	3	0.152	T2	1.107	
1	1	0.215	T3	1.032	
1	2	0.154	T3	1.119	

1	3	0.17	T3	1.121	
2	1	0.181	T3	1.051	1000
2	2	0.180	T3	1.053	
2	3	0.169	T3	1.125	
3	1	0.128	T3	1.093	
3	2	0.151	T3	1.088	
3	3	0.131	T3	1.107	
1	1	0.714	T4	1.032	
1	2	0.814	T4	1.119	
1	3	0.912	T4	1.121	
2	1	0.869	T4	1.051	500
2	2	0.782	T4	1.053	
2	3	0.857	T4	1.125	
3	1	0.765	T4	1.093	
3	2	0.822	T4	1.088	
3	3	0.65	T4	1.107	
1	1	1.081	T5	1.032	
1	2	1.093	T5	1.119	
1	3	1.011	T5	1.121	
2	1	1.023	T5	1.051	250
2	2	1.105	T5	1.053	
2	3	1.056	T5	1.125	
3	1	1.052	T5	1.093	
3	2	1.008	T5	1.088	

3	3	1.069	T5	1.107	
1	1	1.074	T6	1.032	
1	2	1.079	T6	1.119	
1	3	1.079	T6	1.121	
2	1	1.082	T6	1.051	125
2	2	1.008	T6	1.053	
2	3	1.158	T6	1.125	
3	1	1.091	T6	1.093	
3	2	1.014	T6	1.088	
3	3	1.007	T6	1.107	
1	1	1.076	T7	1.032	
1	2	1.501	T7	1.119	
1	3	1.119	T7	1.121	
2	1	1.001	T7	1.051	62.5
2	2	1.012	T7	1.053	
2	3	1.011	T7	1.125	
3	1	1.014	T7	1.093	
3	2	1.094	T7	1.088	
3	3	1.074	T7	1.107	
1	1	1.045	T8	1.032	
1	2	1.044	T8	1.119	
1	3	1.119	T8	1.121	
2	1	1.079	T8	1.051	31.25
2	2	1.061	T8	1.053	

2	3	1.042	T8	1.125
3	1	1.038	T8	1.093
3	2	1.167	T8	1.088
3	3	1.032	T8	1.107

Fuente: Autora (2026).

## Anexo G

*Datos obtenidos de la CMI de Ocotea quixos (ishpingo) frente a Escherichia coli ATCC 25922*

Réplica	Repetición	Absorbancia	Absorbancia control	Tratamientos	Capacidad mínima inhibitoria $\mu\text{g/mL}$
1	1	0.150	1.022	T1	
1	2	0.130	1.146	T1	
1	3	0.180	1.004	T1	
2	1	0.192	1.03	T1	4000
2	2	0.206	1.082	T1	
2	3	0.186	1.017	T1	
3	1	0.137	1.087	T1	
3	2	0.152	1.095	T1	
3	3	0.148	1.042	T1	

1	1	1.047	1.022	T2	
1	2	1.012	1.146	T2	
1	3	1.1	1.004	T2	
2	1	1.092	1.03	T2	2000
2	2	1.101	1.082	T2	
2	3	1.041	1.017	T2	
3	1	1.034	1.087	T2	
3	2	1.04	1.095	T2	
3	3	1.002	1.042	T2	
1	1	1.013	1.022	T3	
1	2	1.035	1.146	T3	
1	3	1.025	1.004	T3	
2	1	1.092	1.03	T3	1000
2	2	1.007	1.082	T3	
2	3	1.047	1.017	T3	
3	1	1.012	1.087	T3	
3	2	1.133	1.095	T3	
3	3	1.133	1.042	T3	
1	1	1.019	1.022	T4	
1	2	1.032	1.146	T4	
1	3	0.987	1.004	T4	
2	1	1.019	1.03	T4	500
2	2	1.01	1.082	T4	
2	3	1.034	1.017	T4	

3	1	1.068	1.087	T4	
3	2	1.048	1.095	T4	
3	3	1.014	1.042	T4	
1	1	1.008	1.022	T5	
1	2	1.074	1.146	T5	
1	3	1.062	1.004	T5	
2	1	1.079	1.03	T5	250
2	2	1.1	1.082	T5	
2	3	1.034	1.017	T5	
3	1	1.009	1.087	T5	
3	2	1.078	1.095	T5	
3	3	1.006	1.042	T5	
1	1	1.073	1.022	T6	
1	2	1.051	1.146	T6	
1	3	1.04	1.004	T6	
2	1	1.048	1.03	T6	125
2	2	1.073	1.082	T6	
2	3	1.015	1.017	T6	
3	1	1.025	1.087	T6	
3	2	1.015	1.095	T6	
3	3	1	1.042	T6	
1	1	1.05	1.022	T7	
1	2	1.021	1.146	T7	
1	3	1.153	1.004	T7	

2	1	1.007	1.03	T7	62.5
2	2	1.034	1.082	T7	
2	3	1.098	1.017	T7	
3	1	1.035	1.087	T7	
3	2	1.16	1.095	T7	
3	3	1.116	1.042	T7	
1	1	1.054	1.022	T8	
1	2	1.08	1.146	T8	
1	3	1.143	1.004	T8	
2	1	1.066	1.03	T8	31.25
2	2	1.026	1.082	T8	
2	3	1.149	1.017	T8	
3	1	1.151	1.087	T8	
3	2	1.131	1.095	T8	
3	3	1.167	1.042	T8	

---

Fuente: Autora (2026).

## Anexo H

*Datos obtenidos del ensayo con cristal violeta con para evaluar la inhibición de la formación de biopelículas con aceite esencial de Schinus molle (molle).*

Réplica	Repetición	Absorbancia $\frac{1}{2}$ CMI	Absorbancia $\frac{1}{4}$ CMI	Absorbancia control positivo
R1	1	0.041	0.031	0.090

R1	2	0.027	0.064	0.105
R1	3	0.038	0.051	0.072
R1	4	0.036	0.044	0.091
R1	5	0.034	0.048	0.101
R1	6	0.038	0.051	0.070
R2	1	0.035	0.031	0.080
R2	2	0.046	0.037	0.095
R2	3	0.028	0.049	0.086
R2	4	0.030	0.046	0.095
R2	5	0.039	0.045	0.113
R2	6	0.020	0.071	0.095
R3	1	0.043	0.045	0.106
R3	2	0.018	0.051	0.089
R3	3	0.037	0.037	0.100
R3	4	0.030	0.057	0.109
R3	5	0.035	0.045	0.091
R3	6	0.023	0.051	0.107

---

*Nota.* El blanco observado fue de 0. No se colocó el control solvente debido a que las absorbancias fueron superiores o similares a las del control negativo. Fuente: Autora (2026).

## **Anexo I**

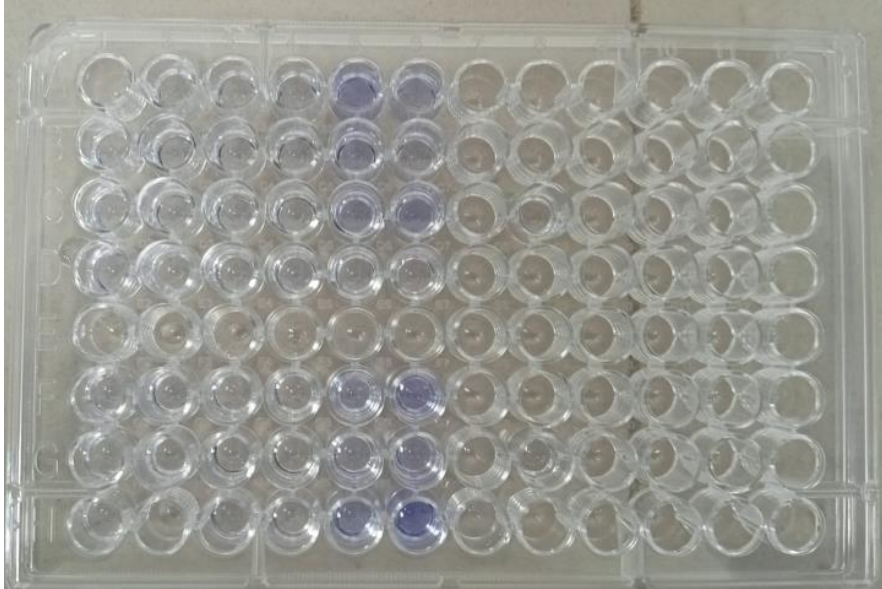
*Datos obtenidos del ensayo con cristal violeta con para evaluar la inhibición de la formación de biopelículas con el AE de Ocotea quixos (ishpingo).*

Réplica	Repetición	Absorbancia ½ CMI	Absorbancia ¼ CMI	Absorbancia control crecimiento
R1	1	0.048	0.050	0.090
R1	2	0.058	0.059	0.105
R1	3	0.049	0.063	0.072
R1	4	0.015	0.062	0.091
R1	5	0.038	0.071	0.101
R1	6	0.030	0.049	0.070
R2	1	0.039	0.070	0.080
R2	2	0.062	0.065	0.095
R2	3	0.047	0.080	0.086
R2	4	0.042	0.067	0.095
R2	5	0.050	0.064	0.113
R2	6	0.056	0.063	0.095
R3	1	0.043	0.075	0.106
R3	2	0.060	0.063	0.089
R3	3	0.070	0.070	0.100
R3	4	0.039	0.093	0.109
R3	5	0.036	0.079	0.091
R3	6	0.041	0.060	0.107

Fuente: Autora (2026).

## Anexo J


### Técnica de tinción con cristal-violeta



Fuente: Autora (2025).

## Anexo K

### Factura por adquisición de cepa de estudio

<b>NO TIENE LOGO</b>		R.U.C.: 1713152047001																														
CORTEZ PABRIMO MARIA ESTHER MICP MICROBIOLAB LABORATORIO MICROBIOLOGIA AGRICOLA ECUADOR Dirección: Calle BELINDA DE QUAYTO 1 Numero: SIN Interseccion Vía Maniz: EL QUINCHE GUAYLAGUABAS Dirección Sucursal: Calle BELINDA DE QUAYTO 1 Numero: SIN Interseccion Vía al QUINCHE GUAYLAGUABAS		FACTURA No. 001-001-00001292 NUMERO DE AUTORIZACION 050120200117131520470010010000072804634905716 FECHA Y HORA DE AUTORIZACION: 05/01/2026 13:08:19 AMBIENTE: PRODUCCION EMISION: NORMAL CLAVE DE ACCESO																														
OBLIGADO A LLEVAR CONTABILIDAD: NO																																
Razón Social / Nombre y Apellido: HERNANDEZ SALAZAR JONATHAN THALIA Identificación: 015587235 Fecha: 04/01/2026 Dirección: Placa / Matricula: Guayaquil																																
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Cat. Principal</th> <th>Cat. Auxiliar</th> <th>Cantidad</th> <th>Descripción</th> <th>Detalle adicional</th> <th>PRECIO URBANO</th> <th>Subtotal</th> <th>Precio sin impuesto</th> <th>Descuento</th> <th>Precio Total</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PTB</td> <td></td> <td>1.00</td> <td>CEPA PURA EN CAJA PETRI</td> <td></td> <td>9.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>9.00</td> </tr> <tr> <td>PTA</td> <td></td> <td>1.00</td> <td>LOGISTICA DE TRANSPORTE</td> <td>precio de traslado para por envío de material por correo certificado</td> <td>6.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>0.00</td> <td>6.00</td> </tr> </tbody> </table>	Cat. Principal	Cat. Auxiliar	Cantidad	Descripción	Detalle adicional	PRECIO URBANO	Subtotal	Precio sin impuesto	Descuento	Precio Total	PTB		1.00	CEPA PURA EN CAJA PETRI		9.00	0.00	0.00	0.00	9.00	PTA		1.00	LOGISTICA DE TRANSPORTE	precio de traslado para por envío de material por correo certificado	6.00	0.00	0.00	0.00	6.00	Información Adicional SubTOTAL IVA 15.00 SubTOTAL NO OBLIGADO IVA 0.00 SubTOTAL CANTIDAD IVA 0.00 SubTOTAL SIN IMPUESTOS 15.00 TOTAL DESCUENTO 0.00 IVA 0.00 IMPORTE 0.00 PROCPINA 0.00 VALOR TOTAL 15.00 VALOR TOTAL SIN SUSESIDO 0.00 ANEXO POR SUSESIDO (Incluir IVA cuando corresponda) 0.00	
Cat. Principal	Cat. Auxiliar	Cantidad	Descripción	Detalle adicional	PRECIO URBANO	Subtotal	Precio sin impuesto	Descuento	Precio Total																							
PTB		1.00	CEPA PURA EN CAJA PETRI		9.00	0.00	0.00	0.00	9.00																							
PTA		1.00	LOGISTICA DE TRANSPORTE	precio de traslado para por envío de material por correo certificado	6.00	0.00	0.00	0.00	6.00																							
Formas de pago: Valor: 15.00																																

Fuente: Microbiolab (2026).