



**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

TESIS

**“SCREENING FITOQUÍMICO Y EFECTO
ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DEL
Schinus molle MOLLE”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

BACHILLER: ROJAS BERMEO, Shirley Sharon

ASESOR: Mg. DÍAZ URIBE, Julio

**LIMA – PERÚ
2016**

DEDICATORIA

A mis padres por todo el apoyo y la inspiración para mejorar como persona y profesional cada día.

AGRADECIMIENTOS

A la Lic. Silvia Valdez Delgado por su orientación y paciencia y al Mg. Julio Díaz Uribe, por su perseverancia y conocimientos brindados.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue identificar los metabolitos presentes en el aceite esencial del *Schinus molle* “molle” y determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Los frutos del molle fueron recolectados en el distrito de Lurigancho-Chosica, en la Provincia de Lima, cultivados a 861 m.s.n.m. La extracción del aceite esencial de molle se realizó mediante una destilación por arrastre de vapor. El rendimiento que se obtuvo del aceite esencial fue 2.108 %, el índice de refracción fue 1.4815 °Brix, el pH fue 3.79 y la densidad del mismo fue 0.862 g/ml. El efecto antimicrobiano *in vitro* se evaluó mediante el método de difusión por excavación en placa, a volúmenes de 0.10 ml, 0.15 ml, 0.20 ml y 0.25 ml del aceite esencial. Las cepas de *S. aureus* y *E. coli* mostraron mayor efecto antimicrobiano al volumen de 0.25 ml del aceite esencial con un tamaño de halo de inhibición promedio de 20.50 mm y 18.62 mm respectivamente.

Palabras Clave: Metabolitos, efecto antimicrobiano, destilación por arrastre de vapor, excavación en placa, aceite esencial, *schinus molle*

ABSTRACT

The objective of this research was to identify metabolites present in the essential oil *Schinus molle* "molle" and determine the in vitro antimicrobial effect of against strains of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The fruits of molle were collected in the district of Lurigancho-Chosica, in the Province of Lima, grown to 861 m.s.n.m. The extraction of essential oil molle was performed by the distillation method by drag vapor. The yield obtained from the essential oil was 2.108 %, refractive index was 1.4815 °Brix, the pH was 3.79 and its density was 0.862 g/ml. *In vitro* antimicrobial effect was evaluated using the diffusion method excavation plate, volumes of 0.10 ml, 0.15 ml, 0.20 ml, 0.25 ml of essential oil. The strains of *S. aureus* and *E. coli* showed greater antimicrobial effect to volume the essential oil of 0.25 ml with a size of inhibition halo average 20.50 mm and 18.62 mm, respectively.

Keywords: Metabolites, antimicrobial effect, distillation method by drag vapor, excavation plaque, essential oil, *Schinus molle*

ÍNDICE

CARÁTULA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FOTOS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
INTRODUCCIÓN	xiv
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
1.1 Descripción de la Realidad Problemática	14
1.2 Formulación del Problema.....	14
1.2.1 Problema General	14
1.2.2 Problemas Específicos	14
1.3 Objetivos de la Investigación	15
1.3.1 Objetivo General	15
1.3.2 Objetivos Específicos	15
1.4 Hipótesis de la Investigación	15
1.4.1 Hipótesis General	15
1.4.2 Hipótesis Secundarias.....	15
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.....	16
1.5.1 Justificación	16
1.5.2 Importancia	16
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	17
2.1 Antecedentes de la Investigación	17
2.1.1 Antecedentes Nacionales.....	17

2.1.2 Antecedentes Internacionales	18
2.2 Bases Teóricas.....	19
2.2.1 Antecedentes del <i>Schinus molle</i>	19
2.2.2 Clasificación Taxonómica del <i>Schinus molle</i>	20
2.2.3 Características del <i>Schinus molle</i>	20
2.2.3.1 Descripción Botánica.....	21
2.2.3.2 Distribución	22
2.2.3.3 Cultivo	23
2.2.3.4 Composición Química	23
2.2.3.5 Usos	25
2.2.4 Aceite Esencial del <i>Schinus molle</i>	26
2.2.4.1 Composición.....	27
2.2.4.2 Métodos de Obtención	28
2.2.5 Screening Fitoquímico.....	28
2.2.6 Metabolitos Primarios.....	29
2.2.7 Metabolitos Secundarios.....	29
2.2.7.1 Alcaloides.....	29
2.2.7.2 Flavonoides.....	29
2.2.7.3 Saponinas.....	30
2.2.7.4 Taninos.....	30
2.2.7.5 Triterpenos.....	30
2.2.7.6 Compuestos Fenólicos.....	30
2.2.7.7 Quinonas.....	30
2.2.8 Descripción de las bacterias patógenas en estudio.....	31
2.2.8.1 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	32
2.2.8.2 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	32
2.2.9 Efecto Antimicrobiano.....	33
2.2.10 Método de Kirby Bauer.....	33
2.3 Definición de Términos Básicos	35
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	37
3.1 Tipo de Investigación	37

3.1.1 Método	37
3.1.2 Técnica.....	38
3.1.3 Diseño	38
3.2 Población y Muestreo de la Investigación	39
3.2.1 Población	39
3.2.2 Muestra	39
3.3 Variables e Indicadores	39
3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	40
3.4.1 Técnicas	40
A. Extracción del aceite esencial por destilación por arrastre de vapor.....	40
B. Screening Fitoquímico del aceite esencial del Molle.....	41
C. Método de Difusión por excavación en placa.....	42
3.4.2 Instrumentos	43
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	48
4.1 Resultados	48
4.2 Análisis e Interpretación de Resultados.....	56
DISCUSIÓN.....	58
CONCLUSIONES	61
RECOMENDACIONES.....	62
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	63
ANEXOS.....	66

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1 Clasificación Taxonómica del <i>Schinus molle</i>	21
TABLA N° 2 Compuestos presentes en el <i>Schinus molle</i>	25
TABLA N° 3 Usos terapéuticos del <i>Schinus molle</i>	26
TABLA N° 4 Composición del Aceite Esencial en frutos secos y hojas de Molle del Perú	28
TABLA N° 5 Características principales del <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	32
TABLA N° 6 Características principales de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	33
TABLA N° 7 Análisis Organoléptico del aceite esencial del <i>Schinus molle</i>	49
TABLA N° 8 Resultados del Screening Fitoquímico del aceite esencial del <i>Schinus molle</i>	51
TABLA N° 9 Resultados del Efecto Antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i> frente a <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 35218)	55
TABLA N° 10 Resultados del Efecto Antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i> frente a <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	56
TABLA N° 11 Promedios de la medición de los halos de inhibición (mm) frente a cepas en estudio	57

ÍNDICE DE FOTOS

FOTO N° 1 Árbol de <i>Schinus molle</i>	22
FOTO N° 2 Fruto de <i>Schinus molle</i>	23
FOTO N° 3 Aceite Esencial del <i>Schinus molle</i>	49
FOTO N° 4 Reconocimiento de Alcaloides mediante Reactivo de Dragendorff	51
FOTO N° 5 Reconocimiento de Alcaloides mediante Reactivo de Mayer	52
FOTO N° 6 Reconocimiento de Flavonoides mediante Magnesio Metálico y HCl []	52
FOTO N° 7 Reconocimiento de Saponinas mediante Agua destilada	53
FOTO N° 8 Reconocimiento de Taninos mediante Reactivo de Gelatina-Sal	53
FOTO N° 9 Reconocimiento de Triterpenos mediante Anhídrido Acético y H ₂ SO ₄ []	54
FOTO N° 10 Reconocimiento de Compuestos Fenólicos mediante Cloruro férrico	54
FOTO N° 11 Reconocimiento de Quinonas mediante Peróxido de Hidrógeno 20%, H ₂ SO ₄ 50%, Tolueno, NaOH 5% y Amoniac 2%	54
FOTO N° 12 Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i> a un volumen de 0.1 ml frente a cepas de <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> (ATCC 25923)	68
FOTO N° 13 Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i> a un volumen de 0.15 ml frente a cepas de <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> (ATCC 25923)	68
FOTO N° 14 Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i>	

a un volumen de 0.2 ml frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	69
FOTO N° 15 Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i> a un volumen de 0.25 ml frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	69
FOTO N° 16 Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i> a un volumen de 0.1 ml frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	70
FOTO N° 17 Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i> a un volumen de 0.15 ml frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	70
FOTO N° 18 Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i> a un volumen de 0.2 ml frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	71
FOTO N° 19 Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del <i>Schinus molle</i> a un volumen de 0.25 ml frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	71
FOTO N° 20 Medición del halo de inhibición del control positivo con Amoxicilina/Ácido Clavulánico frente a cepas de <i>Staphylococcus Aureus</i> (ATCC 25923)	72
FOTO N° 21 Medición del halo de inhibición del control positivo con Amikacina frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	72

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1 Flujograma de Trabajo	46
FIGURA N° 2 Determinación del efecto antimicrobiano	47

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se presenta un incremento de la incidencia de enfermedades bacterianas en los seres humanos, a pesar que existen muchos antibacterianos disponibles para su control o tratamiento, el uso irracional de éstos viene generando un problema creciente de resistencia microbiana.

La Organización Mundial de la Salud (2012) reportó un incremento de resistencia a los antimicrobianos en las primeras líneas de tratamiento, por lo que hizo un llamado a los países para que incrementen sus esfuerzos y controlar la resistencia microbiana, promoviendo así el uso racional de antimicrobianos. La resistencia de los microorganismos a los fármacos existentes, es un problema que tiende a incrementarse, razón por la cual se continúa la búsqueda de nuevos antimicrobianos naturales potentes y seguros para combatir la resistencia y los efectos secundarios.

El *Schinus molle* “molle” es una planta medicinal que contiene aceites esenciales a la que se atribuye actividad antimicrobiana, por lo tanto, el objetivo de la investigación fue determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* del aceite esencial del molle frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Por ello se han realizado investigaciones que demuestran que en las plantas aromáticas se hallan metabolitos como los aceites esenciales, los cuales presentan actividad antibacteriana, antifúngica, antiparasitaria, antiviral e inclusive efecto cicatrizante e insecticida.

Esta investigación se llevó a cabo durante los meses de JULIO a OCTUBRE, en las instalaciones de la CERTIFICADORA Y LABORATORIOS ALAS PERUANAS S.A.C.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la Realidad Problemática

Actualmente los estudios del *Schinus molle* “molle” no está muy difundido en nuestro país, a pesar de ser muy cultivado su uso en la agricultura es muy limitado, como linderos, para proteger a las fincas de la entrada de animales, rompevientos y protector de riberas por su resistencia a la sequía, al frío y a la insolación.

El *Schinus molle* se encuentra a lo largo del camino de los valles y quebradas, se distingue por su olor característico gracias a los aceites esenciales o aromáticos que contiene. A estos aceites esenciales se les atribuye el efecto antimicrobiano, la cual parece ser la mejor estudiada y demostrada frente a gérmenes causantes de infecciones de piel y mucosas como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

En los años 2008-2013 los pacientes hospitalizados en los diferentes servicios de Neumología y Dermatología del Hospital Guillermo Almenara Irigoyen, contraen microorganismos, cuatro de ellos son los más frecuentes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*) siendo los casos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* que ocupan el 37% y 10% del total respectivamente.¹

1.2 Formulación del Problema

1.2.1 Problema General

¿El aceite esencial del molle presentará efecto antimicrobiano?

1.2.2 Problemas Específicos

P.E.1 ¿Qué metabolitos presentará el aceite esencial del molle?

P.E.2 ¿Presentará efecto antimicrobiano el aceite esencial del molle frente a cepas de *Staphylococcus aureus*?

P.E.3 ¿Presentará efecto antimicrobiano el aceite esencial del molle frente a cepas de *Escherichia coli*?

1.3 Objetivos de la Investigación

1.3.1 Objetivo General

Determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial del molle.

1.3.2 Objetivos Específicos

O.E.1 Identificar los metabolitos presentes en el aceite esencial del molle.

O.E.2 Determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial del molle frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

O.E.3 Determinar el efecto antimicrobiano del aceite esencial del molle frente a cepas de *Escherichia coli*.

1.4 Hipótesis de la Investigación

1.4.1 Hipótesis General

El aceite esencial del molle presentará efecto antimicrobiano.

1.4.2 Hipótesis Secundarias

H.E.1 Se podrá identificar los metabolitos presentes en el aceite esencial del molle.

H.E.2 El aceite esencial del molle inhibirá el desarrollo de las cepas de *Staphylococcus aureus*.

H.E.3 El aceite esencial del molle inhibirá el desarrollo de las cepas de *Escherichia coli*.

1.5 Justificación e Importancia de la Investigación

1.5.1 Justificación

El presente trabajo se centra en comprobar el efecto antimicrobiano del aceite esencial del molle por los metabolitos presentes en su composición. El *Schinus molle* “molle” se encuentra muy difundida en el Perú sobre todo en los valles interandinos, no se debe descuidar su cultivo y promover sus propiedades terapéuticas. Su aceite esencial se puede aplicar de manera tópica y las hojas del molle mediante infusiones, en mayor proporción se pueden emplear la tecnología a base de formas farmacéuticas como gel, pomada, crema, loción, entre otras. Es necesario apoyar la investigación sobre las bondades terapéuticas de especies vegetales que cada vez son más usadas como medicina alternativa.

1.5.2 Importancia

Con esta investigación se puede comprobar si el aceite esencial del molle presenta efecto antimicrobiano proponiendo así la elaboración de formas farmacéuticas como pomada a base de aceite esencial del molle que favoreció la cicatrización de heridas infectadas en el ganado vacuno y en ratones albinos realizada en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El efecto antimicrobiano del aceite esencial del molle es una alternativa ante casos clínicos contraídos muchas veces por pacientes hospitalizados y que se han infectado por especies bacterianas como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Antecedentes Nacionales

La tesis realizada por LLANOS A. Stephanie **EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DEL MOLLE (*Schinus molle* L.)** Tacna-2012, se realizó la extracción del aceite esencial del fruto del molle para determinar las características físico-químicas e identificar los componentes principales del aceite esencial probando su actividad antimicótica frente a cepas de *Penicillium italicum*.²

La investigación de MONCADA V. Francisco **DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Schinus molle* (molle) DE AREQUIPA Y MOQUEGUA CONTRA *Klebseilla pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*** Arequipa-2013, se extrajo el aceite esencial del molle por destilación por arrastre a vapor teniendo en cuenta la presión y la temperatura, para determinar si cumplía los límites establecidos se realizó un análisis físico-químico. La composición química se obtuvo mediante Cromatografía de gases acoplado a espectro de masas (GC-MS). Los resultados obtenidos mostraron que el aceite esencial del molle de Arequipa tiene un efecto resistente contra *Klebseilla pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* y un efecto intermedio frente a *Staphylococcus aureus*; mientras que el aceite esencial del molle de Moquegua tiene efecto resistente a los tres microorganismos estudiados.³

La investigación de ALBA Alex, BONILLA Pablo, ARROYO Jorge **ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UNA POMADA CON ACEITE ESENCIAL DE *Schinus molle* L. (molle) EN GANADO VACUNO CON HERIDAS INFECTADAS Y EN RATONES** Lima-2009, se evaluó la actividad cicatrizante del aceite esencial del molle a diferentes concentraciones en comparación con un producto comercial, se encontró que el aceite esencial del molle contiene monoterpenos y sesquiterpenos en pomada y teniendo como base a la vaselina sólida, tuvieron como resultados que el producto posee propiedades cicatrizantes frente a heridas infectadas en ganado vacuno, también se experimentaron en ratones de cepa *Balb C*₅₃, corroborando la experiencia mencionada, siendo la concentración al 2% la que presentó mayor poder cicatrizante frente a la pododermatitis y mastitis subclínicas.⁴

2.1.2 Antecedentes Internacionales

La investigación de OROZCO Mayra **EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE UN GEL ELABORADO A BASE DE EXTRACTOS DE MOLLE (*Schinus Molle* L.), COLA DE CABALLO (*Equisetum arvense* L.) Y LINAZA (*Linum usitatissimum* L.) EN RATONES (*Mus musculus*)** Riobamba-Ecuador (2013), se inició con el control de calidad de la droga cruda, de los extractos etanólicos del molle, cola de caballo y extracto acuoso de linaza para determinar la cuantificación de flavonoides mediante un tamizaje fitoquímico. Luego se realizó un control de calidad del gel y finalmente se comprobó la actividad cicatrizante en ratones.⁵

La investigación de CRUZ C. Anastasia, RODRÍGUEZ Natalia, RODRÍGUEZ Carlos **EVALUACIÓN *IN VITRO* DEL EFECTO ANTIBACTERIANO EN LOS EXTRACTOS DE *Bipends pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*** Boyacá-Colombia (2010), se determinó las propiedades antibacterianas de cuatro especies vegetales mediante extractos etanólicos a partir de sus hojas y fueron sometidos a un análisis microbiológico *in vitro* para establecer su actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.⁶

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 Antecedentes del *Schinus molle*

El árbol de molle es originario del Perú y extendido a toda el área andina durante el período pre-hispánico (Ecuador a Chile y Bolivia). Después de la Conquista, fue llevado por los españoles a Centroamérica y a México, donde recibió, por eso, el nombre de "Perú" o "Árbol del Perú". El molle deriva de la voz quechua "mulli". Este árbol fue citado por muchos naturalistas y viajeros de la época de la conquista de América. Existen referencias de árboles de molle en las zonas altas de los Andes y también hay registros de molle o aguaribay en la zona de Las Misiones (Noroeste de Argentina, Sur de Brasil y Norte de Uruguay). En la actualidad, existe en todo el trópico y su uso es mencionado en el Mediterráneo, en África y en la India.

2.2.2 Clasificación Taxonómica del *Schinus molle*

La clasificación taxonómica de la muestra obtenida en la Provincia de Lima, distrito de Lurigancho-Chosica a 861 m.s.n.m., fue realizada por el Biólogo Hamilton Beltrán y certificada de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, la siguiente clasificación:

TABLA N° 1: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA de *Schinus molle*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Sapindales
Familia	Anacardiaceae
Genero	<u>Schinus</u>
Especie	<u>Schinus molle L.</u>

FUENTE: Anexo N° 01

2.2.3 Características del *Schinus molle*

2.2.3.1 Descripción Botánica

El *Schinus molle*, es un árbol que pertenece a la familia anacardiácea, de crecimiento rápido, color verde de 3 a 10 m de altura, pero existen casos en los que pueden alcanzar los 15 m de altura según el área geográfica.

Tallo grueso de corteza rugosa, persistente, escamosa, agrietada, color cenizo, pardo oscuro, que desprende frecuentes excreciones corticales y resinas blanquecinas. Sus raíces son bien desarrolladas, llegando a alcanzar 20 m de profundidad. En la parte superior, las ramas son delgadas y esparcidas de hojas alternas, colgantes, delgadas, perennes de forma lanceolada. Las ramas principales se encuentran en dirección ascendente y las ramas secundarias y las ramas secundarias pendulares, crecen con dirección hacia el suelo y dan

lugar al abundante follaje, copa redonda, considerado ornamental.

La inflorescencia es una panícula múltiple y terminal, flores sin pelos, pequeñas, numerosas, agrupadas en racimos, suelen ser amarillas verdosas. Es una especie dioica por la presencia de flores hermafroditas: femeninas y masculinas que se encuentran en distintos árboles.

El fruto es una drupa semicarnosa, globosa de 5-6 mm de diámetro, mesocarpio azucarado, exocarpio delgado, de tonalidad rojiza, que se encuentran agrupados en racimos. Permanece en el árbol prolongadamente y al alcanzar el estado de madurez, la cascara suele secarse.

Las semillas son de forma redondas, pequeñas, arrugadas, opacas de color marrón a negro con sabor parecido a la pimienta por lo que se le llama falsa pimienta. En el caso de semillas trituradas se obtiene la pimienta blanca y de las semillas enteras, la pimienta rosada.

FOTO N° 1: ÁRBOL DE *Schinus molle*



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

FOTO N° 2: FRUTO DE *Schinus molle*



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

2.2.3.2 Distribución

El *Schinus molle* “molle” es propio de las regiones cálidas y secas de Sudamérica, vive en las laderas occidentales de la región interandina, vertientes occidentales de los andes peruanos, en la costa y en los valles. Su límite superior se encuentra en el centro y sur del Perú, alrededor de 3500 m.s.n.m. Su distribución altitudinal varía de 0 a 3800 m.s.n.m con precipitaciones anuales de 300 a 2000 mm y temperaturas de 18 a 34 °C. Tiene gran capacidad de rebrote, progresa en terrenos secos y rocosos gracias a sus raíces bien desarrolladas, las que puede llegar hasta 20 a 30 m de profundidad para buscar agua. Requiere suelos ligeramente alcalinos con tendencia a la neutralidad. Es exigente en luz, ligeramente resistente a las heladas, resistente a las termitas y a la sequía.⁷

2.2.3.3 Cultivo

Suele encontrarse en la región de la Sierra Central como Huancayo, Ayacucho y Huánuco, también en los valles de las Provincias de Lima como Chosica (Centro) y Santa Rosa de Quives en Canta (Norte). Dentro de los aspectos del cultivo se realiza un corte de la corteza durante la primavera para promover su crecimiento, el riego es importante en las primeras etapas y no requiere fertilización. La siembra debe hacerse en sustratos permeables para que las sustancias de la germinación se lixivien. Las semillas se remojan por varios días en almácigos y luego se trasplantan a envases, al momento de plantar se deja una distancia de 8 m entre cada árbol en lugares espaciosos, lejos de construcciones e instalaciones subterráneas. La producción de viveros es aproximadamente de 17,000 plantas por kg. de semilla. Se siembran hileras a 2 cm de distancia, empleando 120 g de semilla por m².

2.2.3.4 Composición Química

Se reportan los siguientes compuestos presentes en la planta entera de *Schinus molle*.

TABLA N° 2: COMPUESTOS PRESENTES EN EL *Schinus molle*

HOJAS	<p>Contienen:</p> <p>Flavonoides (Quercetina, rutina, quercitrina e isoquercitrina), pigmentos antocianídicos, triterpenos, β-sitosterol, taninos, ácido gálico, ácido protocatéquico, glucosa, fructosa y aceite esencial en un 0,5%.</p>
CORTEZA Y SEMILLAS	<p>Contienen:</p> <p>Ácido linolénico, ácido linoleico, ácido lignocérico y ácido esteárico.</p>
FRUTOS	<p>Se han aislado aceites esenciales en un 2,4% conteniendo:</p> <p>α-bergamontranseno, bourboneno, α y δ-cadineno, α y γ-calacoreno, calameneno, canfeno, carvacrol, βcariofileno, γ-copaeno, γ-cubebeno, <i>p</i>-cimeno, butirato de geraniol, hexanoato de nerol, α y β-felandreno, α y β-pineno, α -terpineol, γ-terpineno, α y γ-muroleno, etc.</p> <p>Además: cianidina-3-galactósido, cianidina-3-rutinósido y peonidina-3glucósido.</p>

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

2.2.3.5 Usos

Se registraron diversos empleos tradicionales de distintas partes de la planta de *Schinus molle* principalmente de las hojas y frutos para uso externo e interno, las cuales se registraron en la siguiente tabla.

TABLA N° 3: USOS TERAPÉUTICOS DEL *Schinus molle*

PARTE DE LA PLANTA	FORMA DE PREPARACIÓN	USO	DESCRIPCIÓN TERAPÉUTICA
Planta entera	Decocción	Externo	Antipirético (hervido en baños)
Ramas Jóvenes	Emplastos	Externo	Antiséptico veterinario
Hojas	Decocción	Externo	Aplicado en fracturas
		Interno	Antiséptico de la cavidad oral Hipotensiva para gonorrea
	Infusión	Interno	Antirreumático, condimento culinario (picantes)
Frutos	Decocción	Interno	Antirreumático, en la retención urinaria, emenagogo, expectorante, antiparasitario

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

Los usos de las distintas partes de la planta son muy variados, desde purgantes, enjuague bucal, diurético desinfectante hasta sedante en distintas preparaciones. En muchas ocasiones se usa como tratamiento para problemas digestivos (cólicos, bilis, dolor de estómago y estreñimiento), la infusión de la corteza disminuye las inflamaciones y favorece la cicatrización de las úlceras.

La planta entera se usa externamente para fracturas y como antiséptico local. En inhalación las hojas de molle se usan para aliviar resfriados, afecciones bronquiales, hipertensión, depresión y arritmia. (Sistema Nacional de Información forestal de México, 2010).⁸

2.2.4 Aceite esencial del *Schinus molle*

2.2.4.1 Composición

En mayor proporción se encuentran los compuestos terpénicos como el limoneno, sobre todo los triterpenos con ausencia de taninos o flavonoides. Además, constituye una fuente rica de monoterpenos y sesquiterpenos, los cuales se emplean en perfumería y como fungicidas naturales. Las hojas pueden contener hasta 2% de aceite esencial; mientras que los frutos, hasta 5%.

Está compuesto principalmente por: β -mirceno (30,1%), α -felandreno (26,4%), β -pineno (13,5%), α -pineno (11,9%), limoneno (9,9%) y β -felandreno (5,7%), entre otros.⁸ Los aceites esenciales del molle han sido objeto de diversas investigaciones, muchas de ellas para determinar su composición, además de la evidencia de su efecto citotóxico sobre células tumorales.⁹

El aceite esencial presente en la planta *Schinus molle* según múltiples estudios, reflejan variabilidad en hojas y frutos. Según estudios realizados por cromatografía de gases al aceite esencial de *Schinus molle*, se reportan los siguientes componentes.

TABLA N° 4: COMPOSICIÓN DEL ACEITE ESENCIAL EN FRUTOS SECOS Y HOJAS DE MOLLE DEL PERÚ

Aceite esencial de Hojas	Triciclono, alfa-thujeno, alfa-pineno, canfeno, sabineno, beta-pineno, mirceno, alfa-felandreno, alfa-terpineno, p-cimeno, limoneno, beta-felandreno, p-menta-1,4(8)-dieno, octanoato de metilo, cariofileno, cadineno, oxido de cariofileno, D-germacreno, B-germacreno, spathulenol, alfa-cadinol, 1,2,3,4,4 ^a ,5,6,8 ^a -octahidro-a,a,4 ^a ,8-tetrametil-2-naftalenometanol, T-cadinol
Aceite esencial de frutos secos	alfa-pineno, beta-pineno, alfa-felandreno, p-cimeno, limoneno, beta-felandreno, octanoato de metilo, cariofileno, cadineno, D-germacreno, B-germacreno.

FUENTE: Normalización de Productos Naturales Obtenidos de Especies de la Flora Aromática Latinoamericana 2010.¹⁰

2.2.4.2 Métodos de Obtención

A. Enflorado o enfleurage

Es una técnica antigua para la extracción de esencias delicadas. El principio se basa en el contacto que tiene la planta con una grasa refinada por un tiempo establecido. Finalizado este tiempo, se reemplaza el material vegetal las veces necesarias con el fin de saturar la grasa refinada para la posterior extracción del aceite esencial de la grasa.¹¹

B. Destilación por arrastre de vapor

Se emplea para extraer la mayoría de los aceites esenciales, es una destilación de mezcla de dos líquidos inmiscibles y consiste en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada uno de los compuestos volátiles, por efecto de una corriente directa de vapor. En esta técnica el vapor de agua ligeramente sobre calentado proveniente de un generador, se hace llegar hasta el recipiente que contiene la planta, de donde arrastra los componentes volátiles que luego se condensan obteniéndose así una mezcla de agua y aceite, de la cual el aceite esencial se separa fácilmente por simple decantación.

C. Extracción con fluidos en estado supercrítico

Son fluidos supercríticos aquellas sustancias que se encuentran por encima de su temperatura y presión crítica. La muestra vegetal se corta o licua y con el fluido súper crítico se obtiene el aceite esencial junto con ceras cuticulares.

2.2.5 Screening Fitoquímico

Son una serie de métodos para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos de una planta, basados en la extracción de estos a través de solventes apropiados y en la aplicación de pruebas de coloración. La marcha fitoquímica preliminar nos permite identificar los metabolitos primarios y secundarios de una determinada especie vegetal.

2.2.6 Metabolitos primarios

Son los productos químicos necesarios para la vida, resultantes del metabolismo vital de todo ser vivo, entre ellos encontramos a los carbohidratos, los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos.

2.2.7 Metabolitos secundarios

Son subproductos de rutas metabólicas que se dan en algunas especies, algunos de ellos son residuos bioquímicos, es decir, productos de actividad enzimática de substratos no apropiados o productos de desecho sin importancia. El reconocimiento de los metabolitos secundarios se realiza mediante pruebas fitoquímicas preliminares, lo cual da por resultado una manifestación sensible como el cambio de un color, la formación de un precipitado o el desprendimiento de un gas, dándonos indicios de la presencia o ausencia de un metabolito secundario en particular.

2.2.7.1 Alcaloides

Son sustancias básicas que contienen nitrógeno en un anillo heterocíclico, derivados de aminoácidos y presentan distribución taxonómica limitada. Se encuentran en plantas superiores como sales de un ácido orgánico.

2.2.7.2 Flavonoides

Son compuestos polifenólicos con quince átomos de carbono, cuya estructura consta de 2 anillos de benceno unidos por una cadena lineal de tres carbonos. El esqueleto de los flavonoides se representa por el sistema C6 – C3 – C6.

2.2.7.3 Saponinas

Son un grupo de glicósidos solubles en agua, que tienen la propiedad de hemolizar la sangre y disminuir la tensión superficial del agua, formando espuma abundante.

2.2.7.4 Taninos

Son productos de excreción de muchas plantas, involucrados en mecanismos de defensa contra parásitos. Se encuentran comúnmente en hojas, ramas y debajo de la corteza. Químicamente los taninos son polímeros de polifenoles, sustancias con alto peso molecular.

2.2.7.5 Triterpenos

Los triterpenos o triterpenoides son compuestos con un esqueleto carbonado basado en seis unidades de isopreno que derivan biogénicamente del escualeno, hidrocarburo acíclico de 30 carbonos.

2.2.7.6 Compuestos fenólicos

Son aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, unidas a estructuras aromáticas. Son los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de estas.

2.2.7.7 Quinonas

Las quinonas son dicetonas cíclicas insaturadas que por reducción se convierten en polifenoles, siendo reversible esta reacción.

2.2.8 Descripción de las bacterias patógenas en estudio

2.2.8.1 *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Son bacterias muy resistentes al calor y a la desecación. Sus características principales se describen en la siguiente tabla.

TABLA N° 5: CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DEL *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

Orden: <i>Bacillales</i>	Inmóviles
Familia: <i>Staphylococceae</i>	No esporulados
Género: <i>Staphylococcus</i>	Aerobios facultativos
Especie: <i>Aureus</i>	Crecimiento rápido (18-24 h)
Bacterias esféricas o en cocos	Catalasa positiva
Grampositivas	Agrupación en racimos
Resistente a diversas condiciones ambientales	

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

La patogenicidad de las infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* consiste en que un aproximado del 20% de la población es portadora permanente de *S. aureus* en las fosas nasales y un 30% lo es de manera intermitente. El *S. aureus* puede además colonizar otras áreas tales como la piel y el tracto gastrointestinal. ¹²

2.2.8.2 *Escherichia coli* (ATCC 35218)

Es una bacteria de rápido crecimiento y proliferación amplia en el suelo, agua, y gran variedad de animales. Sus características principales se describen en la siguiente tabla.

**TABLA N° 6: CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES DE
Escherichia coli (ATCC 35218)**

Orden: <i>Enterobacteriales</i>	Móviles
Familia: <i>Enterobacteriaceae</i>	No formador de esporas
Género: <i>Escherichia</i>	Anaerobio facultativo
Especie: <i>Coli</i>	Catalasa positiva
Bacterias en forma de bacilos	Oxidasa positiva
Gramnegativas	
Productora de vitamina B y vitamina K	
No es muy Resistente a diversas condiciones ambientales	

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

- Epidemiología

Es la especie bacteriana más común de la flora intestinal a pocas horas después del nacimiento. Diferentes cepas de *E. coli* son patógenos gastrointestinales graves para los seres humanos y para algunos animales destinados a la producción de alimentos. Se distinguen seis grupos de cepas causantes de diarrea en el hombre:

1. *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) productora de cepas que producen toxinas termolábiles y toxinas termoestables, causante de diarreas agudas, generalmente sin sangre, sin moco, sin pus, en niños menos de 5 años y causa frecuente de la diarrea del viajero.
2. *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) caracterizada por producir diarrea, colitis hemorrágica y cólicos abdominales.

3. *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) cursa con la presencia de diarrea acuosa con moco, sangre y/o cólicos abdominales.
4. *E. coli* enteropatógena (EPEC) se presenta con mayor incidencia en niños menores de seis meses y dos años, se manifiesta con diarrea aguda pudiendo ser leve o grave, con vómito, fiebre baja y mala absorción.
5. *E. coli* enteroagregativa (EAEC) cursa con moco, sin sangre, y sin o con poca fiebre.
6. *E. coli* adherencia difusa (DAEC) presenta diarrea acuosa sin sangre y sin leucocitos.

2.2.9 Efecto antimicrobiano

Diversos ensayos realizados han demostrado las propiedades antibacterianas y antifúngicas del aceite esencial de molle, y ratificaron con un amplio espectro algunas de las propiedades antiinfecciosas de los preparados de esta especie, que han sido empleados en países sudamericanos como Brasil y Perú.

El aceite esencial del molle presenta actividad antibacteriana contra cepas Gram (+) como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, y cepas Gram (-) como *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae* y *Proteus vulgaris*.

2.2.10 Método de Kirby-Bauer

Es una prueba de sensibilidad, rápida, reproducible, práctica, cualitativa que evalúa la sensibilidad bacteriana frente a un agente antimicrobiano. Es recomendada para microorganismos de crecimiento rápido, no exigentes y se recomienda su uso en laboratorios clínicos.

El principio del método de disco por difusión, se basa en la distribución de la bacteria aislada mediante un inóculo a una

superficie de agar que contiene la placa Petri, generalmente en agar Mueller Hinton, por ser fuente principal de ricos nutrientes para el crecimiento del mayor número de bacterias. Luego, empleando una pinza estéril se colocan los discos de antibióticos, que, al entrar en contacto con el agar, el antibiótico se difunde en el medio de cultivo. Se procede a la incubación de la placa a 37 °C por 24 horas y pasado este tiempo se inicia la lectura.

El método de difusión por excavación en placa, es una modificación de la técnica de difusión en disco (Kirby-Bauer) que consiste en realizar perforaciones circulares en una placa Petri que contiene 30ml del agar, empleando una pipeta Pasteur, según el diámetro requerido, para evaluar las sustancias que se colocan en el interior de las perforaciones, difundiendo en el medio e inhibiendo el crecimiento bacteriano.¹¹ Se considera tres criterios para reportar la sensibilidad de la bacteria: ¹³

- **SENSIBLE:** Esta categoría implica que, en caso de una infección, ésta puede ser tratada con la dosis habitual del antibiótico recomendado, existiendo alta probabilidad de éxito terapéutico.
- **INTERMEDIO:** Esta categoría incluye cepas que puedan ser inhibidas por concentraciones de antibiótico más elevadas, siempre que se pueda aumentar la dosis. Implica eficacia clínica en sitios del cuerpo donde el fármaco es concentrado fisiológicamente.
- **RESISTENTE:** Se le considera alto fracaso terapéutico, ya que la bacteria no sería inhibida en las dosis habituales o desarrollo resistencia a dicho antibiótico.

2.3 Definición de Términos Básicos

- Estudio *in vivo*: Es la experimentación hecha dentro o en el tejido vivo de un organismo vivo como las pruebas con animales y ensayos clínicos.
- Estudio *in vitro*: Es la técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, generalmente en un ambiente controlado fuera del organismo vivo.
- Droga cruda: Se refiere a la droga de origen animal o vegetal que no ha sufrido ningún otro proceso que no sea recolección y secado.
- Extracto etanólico: Consiste en incorporar las sustancias activas de una planta a un solvente, generalmente suele ser agua o alcohol. Se puede realizar en frío o en caliente y el producto es una solución concentrada.
- Cromatografía de gases: Es la técnica analítica que reúne la capacidad de separación o de su sensibilidad a la hora de analizar compuestos volátiles.
- Espectro de masas: Es una técnica de análisis cualitativo de amplia utilización para la determinación de estructuras orgánicas por si sola o en combinación con otras técnicas de espectrofotometría.
- Halos de inhibición: Es la zona de difusión que indica la presencia de bacterias en diferentes medios o ante la muestra de investigación, mediante la medición del diámetro podemos hallar la concentración mínima inhibitoria.
- Pododermatitis: Es una enfermedad infecciosa que afecta al ganado bovino por una inflamación y cojera, es extremadamente dolorosa y

puede volverse crónica afectando a otras estructuras del pie si no se aplica un tratamiento.

- Mastitis: Es una enfermedad infecciosa que afecta la ubre de la vaca en diversos grados de intensidad.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo de Investigación

Aplicativo:

Se extrajo el aceite esencial del *Schinus molle* “molle” para identificar sus metabolitos presentes y determinar su efecto antimicrobiano, basándose en estudios anteriores y así desarrollar los objetivos y las hipótesis correspondientes.

3.1.1 Método

Científico:

La realización de este proyecto de investigación siguió todas las exigencias que este método plantea.

Inductivo:

Se utilizó una determinada muestra de molle para extraer su aceite esencial, identificar sus metabolitos y determinar su efecto antimicrobiano.

Cualitativo:

Se identificó la presencia de metabolitos en el aceite esencial del molle y el tipo de sensibilidad bacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Cuantitativo:

Se realizó la medición de los halos de inhibición del aceite esencial del molle en las placas Petri para determinar su efecto antimicrobiano frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

3.1.2 Técnica

3.1.2.1 Recolección de la especie vegetal en estudio

Se recolectó los frutos del *Schinus molle* “molle” en la provincia de Lima, distrito de Lurigancho-Chosica cultivado a 861 m.s.n.m.

3.1.2.2 Selección y limpieza del fruto del *Schinus molle*

Se escogió los frutos que se encontraron en buen estado, se limpiaron y se lavaron para despojarlos de impurezas propias del lugar de recolección, luego se sacaron las semillas. Se procedió a secar los frutos a temperatura ambiente.

3.1.2.3 Triturado y pesado

Los frutos del *Schinus molle* “molle” fueron triturados en un mortero, para luego ser pesados dando como resultado 5028 g para la obtención del aceite esencial.

3.1.3 Diseño

No experimental

La identificación de los metabolitos y la determinación del efecto antimicrobiano del aceite esencial del *Schinus molle* “molle”, son estudios ya realizados en nuestro país y en el extranjero, las cuales fueron base para realizar los métodos apropiados en la investigación.

Descriptivo

Se realizó el Screening Fitoquímico del aceite esencial del *Schinus molle* “molle” para identificar los metabolitos presentes, luego se determinó el efecto antimicrobiano del aceite esencial frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Transversal

La identificación de los metabolitos y la determinación del efecto antimicrobiano del aceite esencial del *Schinus molle* “molle” se realizó en el transcurso de los meses de Julio – Octubre.

3.2 Población y Muestreo de la Investigación

3.2.1 Población

Frutos de la planta *Schinus molle* “molle” recurso vegetal procedente de la provincia de Lima, distrito de Lurigancho-Chosica, cultivado a 861 m.s.n.m.

3.2.2 Muestra

106 ml de aceite esencial obtenido de 5 028 g. del fruto de la planta *Schinus molle* “molle” por el método de destilación por arrastre de vapor.

3.3 Variables e Indicadores

VARIABLE INDEPENDIENTE (X)	INDICADORES
Aceite esencial del <i>Schinus molle</i> (molle)	Análisis Organoléptico
	Evaluación del Rendimiento
	Índice de Refracción
	pH
	Densidad

VARIABLE DEPENDIENTE (Y)	INDICADORES
	Determinación de alcaloides
	Determinación de flavonoides
	Determinación de saponinas
	Determinación de taninos

Screening Fitoquímico del aceite esencial del molle	Determinación de triterpenos
	Determinación de compuestos fenólicos
	Determinación de quinonas
Efecto antimicrobiano del aceite esencial del molle frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	Halo de Inhibición
Efecto antimicrobiano del aceite esencial del molle frente a cepas de <i>Escherichia coli</i>	Halo de Inhibición

Fuente y elaboración propia

3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

3.4.1 Técnicas

- A. Extracción del aceite esencial del *Schinus molle* por destilación por arrastre de vapor.

Para la destilación por arrastre de vapor se pesaron 5028 g de los frutos de *Schinus molle*, los cuales fueron triturados en un mortero, luego pesados y colocados en el recipiente de vidrio. Seguidamente, se procedió a la extracción del aceite esencial en una pera de decantación, separando primero el aceite del agua. A continuación, se añadió sulfato de sodio anhidro al aceite obtenido y se dejó reposar durante 30 minutos, para finalmente almacenarlo en un frasco ámbar a una temperatura de -4°C.

B. Screening Fitoquímico del aceite esencial del molle

1. Reconocimiento de Alcaloides

Agregar 1 ml de aceite esencial en un tubo de ensayo, luego 1 ml de reactivo de Dragendorff dando como resultado un precipitado color naranja.

Agregar 1 ml de aceite esencial en un tubo de ensayo, luego 1 ml de reactivo de Mayer dando como resultado un precipitado color blanco lechoso.

2. Reconocimiento de Flavonoides

Agregar 2 ml de aceite esencial en un tubo de ensayo, luego 2 a 3 limaduras de Magnesio metálico y por ultimo varias gotas de HCl [] dando como resultado una coloración rojo grosella.

3. Reconocimiento de Saponinas

Agregar 1 ml de aceite esencial en un tubo de ensayo, luego 3 ml de agua destilada. Agitar vigorosamente por 2 minutos dando como resultado una espuma persistente por 5 minutos.

4. Reconocimiento de Taninos

Agregar 1 ml de aceite esencial en un tubo de ensayo, luego agregar 1 ml de reactivo Gelatina–Sal (1:10) dando un precipitado blanco. Centrifugar a 2000 RPM por cinco minutos, desechar el sobrenadante y redissolver el precipitado en 2 ml de Urea 10M. Por último, agregar III gotas de Cloruro férrico al 10% mas III gotas del reactivo Gelatina-Sal dando un precipitado de color verde, azul o negro.

5. Reconocimiento de Triterpenos

Agregar 1 ml de aceite esencial en un tubo de ensayo, luego agregar 1 ml de Anhídrido acético por la pared del tubo de ensayo. Dejar resbalar II gotas de H_2SO_4 [] dando una coloración azul, violeta, rojo o verde.

6. Reconocimiento de Compuestos fenólicos

Agregar 1 ml de aceite esencial en un tubo de ensayo, luego agregar III gotas de Cloruro férrico al 5% dando una coloración verde limón a azul intenso o púrpura.

7. Reconocimiento de Quinonas

Agregar 5 ml de aceite esencial en un tubo de ensayo, luego agregar 1 ml de Peróxido de Hidrogeno al 20% y 1 ml de H_2SO_4 al 50%. Calentar en agua hirviendo por 15 minutos, dejar enfriar y agregar 5 ml de tolueno. Agitar sin emulsionar, recuperar la fase toluénica y trasvasar 2 ml de esta fase a un tubo de ensayo. Agregar finalmente 1 ml de NaOH al 5% con Amoníaco al 2%, agitar y observar que la capa acuosa presente una coloración roja o rosada.

C. Método de Difusión por excavación en placa

El principio de este método implicó la siembra del inóculo sobre toda la superficie de la placa que contuvo 30 ml de Agar Mueller Hinton, luego se realizó pozos de 8 mm de diámetro para formar así por difusión una gradiente de concentración antimicrobiano y la sensibilidad del microorganismo estuvo indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento alrededor del pozo contenido con el aceite esencial del *Schinus molle*.

Las placas se incubaron a 37°C por 24 horas y se midieron los halos de inhibición de desarrollo. Se realizaron 4 ensayos por cada volumen de aceite esencial del *Schinus molle* “molle”.

Los resultados se expresaron como:

Sensible (S) cuando presentan el halo de inhibición ≥ 20 mm.

Intermedio (I) cuando presentan el halo de inhibición 12-19 mm.

Resistente cuando presenta el halo de inhibición ≤ 12 mm.

Según (CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009).¹⁴

3.4.2 Instrumentos

Equipos:

1) Autoclave

Marca: FRAVILL

Serie: AVD-200607

Temperatura de trabajo: 121°C \pm 1°C

2) Balanza

Marca: OHAUS

Modelo: SCOUT PRO SP2001

Serie: 7125270235

Capacidad Máxima: 2 000 g

3) Balanza Analítica

Marca: SHIMADZU

Modelo: AW320

Serie: D422500745

Capacidad Máxima: 320 g

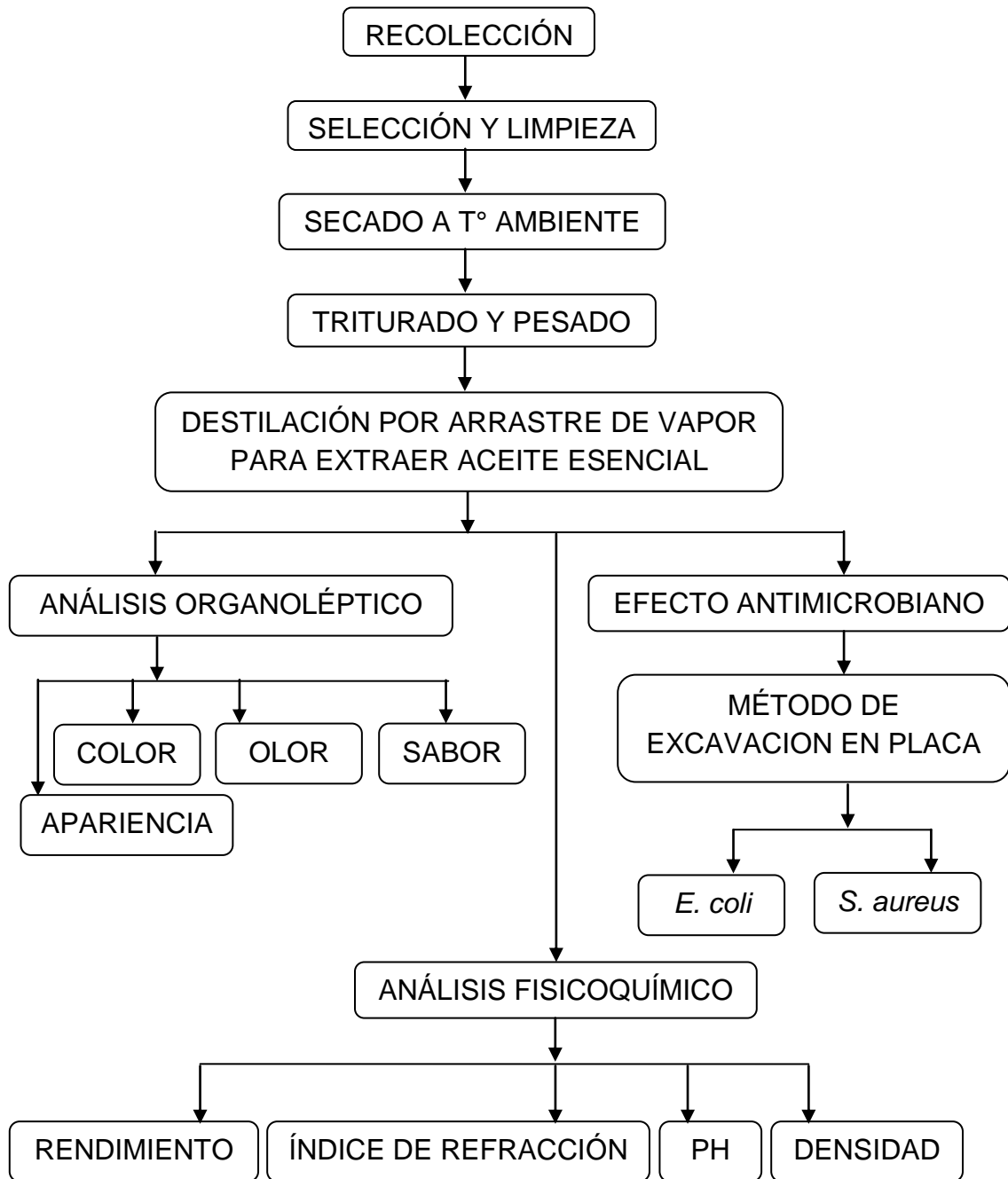
- 4) Baño maría
Marca: FRAVILL
Rango: $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 5) Centrifuga
Marca: Biosan
- 7) Cocinilla
Marca: Pritech
- 8) Estufa
Marca: FRAVILL
Serie: ED-220808
Temperatura de trabajo: $170^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$
- 9) Incubadora
Marca: MEMMERT
Serie: IBD-150509
Temperatura de trabajo: $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$
- 10) Potenciómetro
Marca: SCHOTT
Modelo: Lab-850
Rango: $0 - 14 / \pm 0,01$
- 12) Refractómetro
Marca: BAUSCH & LOMB
- 13) Refrigeradora
Marca: Samsung
- 14) Vórtex
Marca: GEMMY
Modelo: VM300

Reactivos:

- 1) Reactivo de Dragendorff
- 2) Reactivo de Mayer
- 3) Ácido Clorhídrico concentrado
- 4) Limaduras de Magnesio metálico

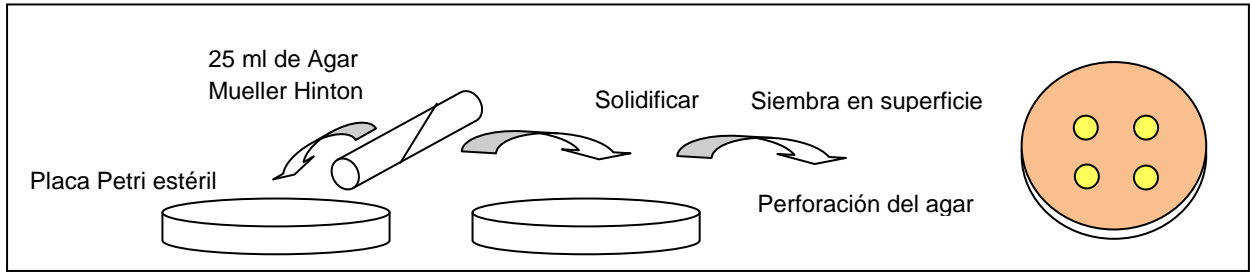
- 5) Reactivo Gelatina-Sal
- 7) Anhídrido acético
- 8) Ácido sulfúrico concentrado
- 9) Cloruro férrico al 5%
- 10) Cloruro férrico al 10%
- 11) Peróxido de Hidrógeno al 20%
- 12) Ácido sulfúrico al 50%
- 13) Tolueno
- 14) Hidróxido de sodio al 5%
- 15) Amoníaco al 2%
- 16) Urea 10M

Figura N° 1: Flujograma de Trabajo

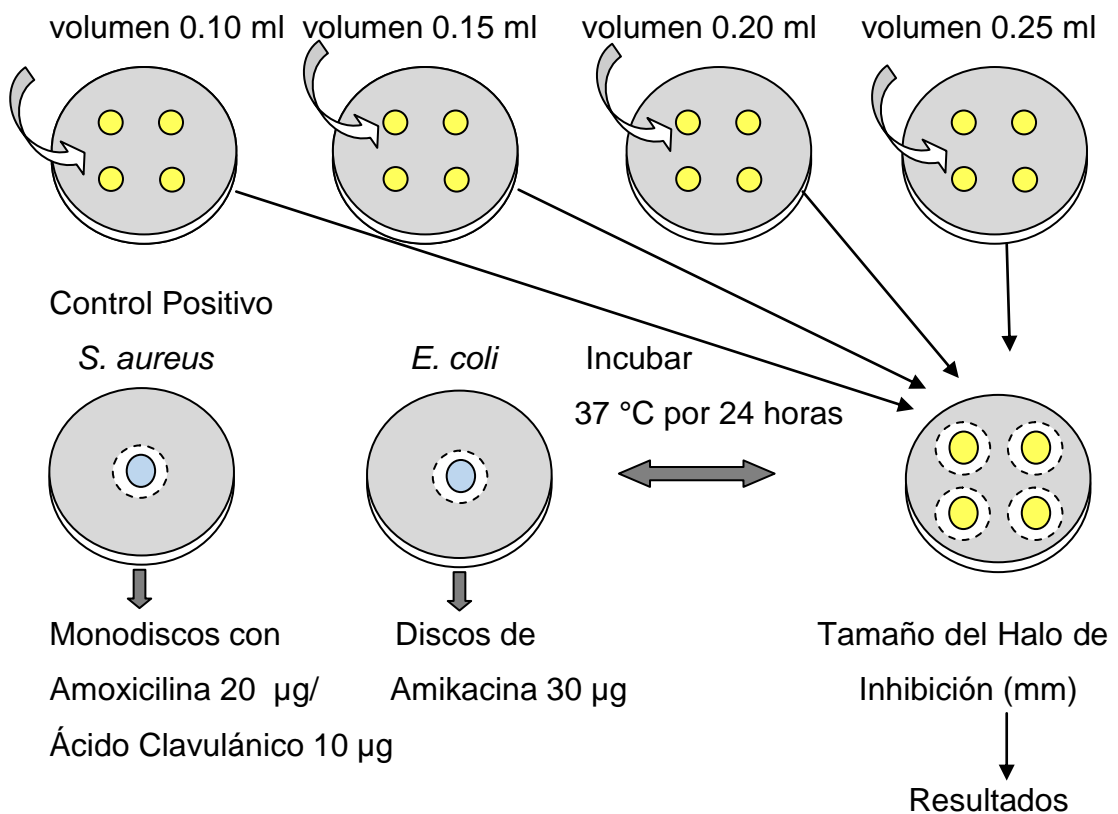


Fuente y elaboración propia

Figura N° 2: Determinación del efecto antimicrobiano








Para cada ensayo antimicrobiano *S. aureus* / *E. coli*:



Fuente y elaboración propia

Leyenda:

-  Zona de la placa con Agar Mueller Hinton
-  Zona de la placa con Agar Mueller Hinton y cepa bacteriana
-  Pozo con aceite esencial del *Schinus molle* "molle"
-  Pozo con el control positivo: Discos de sensibilidad con Amoxicilina 20 µg/Ácido Clavulánico 10 µg – Amikacina 30 µg
-  Zona del Halo de Inhibición

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Resultados

4.1.1 Análisis Organoléptico

FOTO N° 3: ACEITE ESENCIAL DEL *Schinus molle*



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

TABLA N° 7: ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Schinus molle*

Apariencia	Líquido poco viscoso
Color	Amarillo claro
Olor	Penetrante
Sabor	Amargo y picante

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

4.1.2 Evaluación del Rendimiento

Se halló el rendimiento del aceite esencial del molle mediante la siguiente formula:

$$\%R = \frac{\text{Volumen del aceite esencial obtenido} \times 100}{\text{Peso del material de partida}}$$

$$\%R = \frac{106 \text{ ml} \times 100}{5028 \text{ g}}$$

$$\%R = 2.108\%$$

4.1.3. Índice de Refracción

Se determinó el índice de refracción mediante el Refractómetro marca BAUSCH & LOMB, dando como resultado 1.4815 °Brix.

4.1.4. pH

Se determinó el pH mediante el Potenciómetro marca SCHOTT modelo Lab-850, dando como resultado 3.79

4.1.5. Densidad

Se determinó la densidad mediante el picnómetro a 20 °C, dando como resultado 0.862 g/ml.

4.1.6. Screening Fitoquímico del aceite esencial del *Schinus molle*

TABLA N° 8: RESULTADO DEL SCREENING FITOQUÍMICO DEL ACEITE ESENCIAL DEL *Schinus molle*

METABOLITOS	RESULTADO
Alcaloides	+++
Flavonoides	+++
Saponinas	+++
Taninos	++
Triterpenos	+++
Compuestos Fenólicos	++
Quinonas	+++

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

Leyenda:

+++ : Alta evidencia

++ : Ligera evidencia

FOTO N° 4: RECONOCIMIENTO DE ALCALOIDES MEDIANTE REACTIVO DE DRAGENDORFF



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

**FOTO N° 5: RECONOCIMIENTO DE ALCALOIDES MEDIANTE
REACTIVO DE MAYER**



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

**FOTO N° 6: RECONOCIMIENTO DE FLAVONOIDES MEDIANTE
MAGNESIO METÁLICO Y HCl []**



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

**FOTO N° 7: RECONOCIMIENTO DE SAPONINAS MEDIANTE
AGUA DESTILADA**



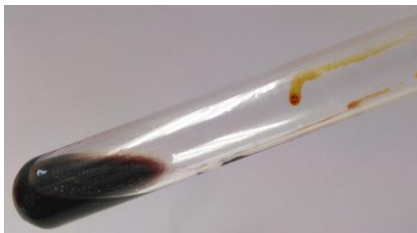
FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

**FOTO N° 8: RECONOCIMIENTO DE TANINOS MEDIANTE
REACTIVO GELATINA-SAL**



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

**FOTO N° 9: RECONOCIMIENTO DE TRITERPENOS
MEDIANTE ANHÍDRIDO ACÉTICO Y H₂SO₄ []**



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

**FOTO N° 10: RECONOCIMIENTO DE COMPUESTOS
FENÓLICOS MEDIANTE CLORURO FÉRRICO**



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

**FOTO N° 11: RECONOCIMIENTO DE QUINONAS
MEDIANTE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO 20%, H₂SO₄
50%, TOLUENO, NaOH 5% Y AMONÍACO 2%**



FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

4.1.7. Efecto antimicrobiano del Aceite esencial de *Schinus molle*

**TABLA N° 9: RESULTADOS DEL EFECTO
ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Schinus
molle* FRENTE A *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)**

Método de Difusión por Excavación en Placa										
Halos de inhibición en mm frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)										
VOLUMEN DEL ACEITE ESENCIAL	PLACA 1		PLACA 2		PLACA 3		PLACA 4		RESULTADO	
									(mm)	S- I- R
0.10 ml	16	17	17	16	16	17	17	17	16.68	I
	17	17	16	17	17	17	17	16		
0.15 ml	18	17	18	18	17	17	18	18	17.56	I
	18	18	17	18	18	17	17	17		
0.20 ml	19	19	18	19	19	19	18	18	18.81	I
	19	19	19	19	19	19	19	19		
0.25 ml	20	21	21	19	21	21	20	21	20.50	S
	21	21	20	20	20	20	21	21		

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

Leyenda:

S: Sensible

I: Intermedio

R: Resistente

Control positivo:

Frente a *Staphylococcus aureus* se utilizaron los Monodiscos de sensibilidad con Amoxicilina 20 µg/Ac. Clavulánico 10 µg de la marca BRITANIA.

**TABLA N° 10: RESULTADOS DEL EFECTO
ANTIMICROBIANO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Schinus
molle* FRENTE A *Escherichia coli* (ATCC 35218)**

Método de Difusión por Excavación en Placa										
Halos de inhibición en mm frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)										
VOLUMEN DEL ACEITE ESENCIAL	PLACA 1		PLACA 2		PLACA 3		PLACA 4		RESULTADO	
	(mm)	S - I - R								
0.10 ml	14	15	15	14	15	15	14	15	14.75	I
	15	14	15	15	15	15	15	15		
0.15 ml	16	17	17	16	17	16	17	17	16.56	I
	16	16	16	17	17	16	17	17		
0.20 ml	17	17	17	16	17	17	16	17	16.62	I
	17	16	16	17	17	16	16	17		
0.25 ml	18	18	19	19	19	18	18	19	18.62	I
	19	19	18	19	19	19	19	18		

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

Leyenda:

S: Sensible

I: Intermedio

R: Resistente

Control positivo:



Frente a *Escherichia coli* se utilizaron los discos de sensibilidad con Amikacina 30 µg de la marca SHARLAU.

TABLA N° 11: PROMEDIOS DE LA MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (MM) FRENTE A LAS CEPAS EN ESTUDIO

Bacteria	Volumen			
	0.1 ml	0.15 ml	0.20 ml	0.25 ml
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	16.68 mm	17.56 mm	18.81 mm	20.50 mm
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)	14.75 mm	16.56 mm	16.62 mm	18.62 mm

FUENTE Y ELABORACIÓN PROPIA

Leyenda:

-  Sensible (≥ 20 mm)
-  Intermedio (12-19 mm)

4.2 Análisis e Interpretación

Según los criterios publicados por el CLSI (Clinical and laboratory standards institute) en Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing en Enero del 2014, observamos en la **TABLA N° 9** que las cepas de *Staphylococcus aureus* no presentan resistencia al aceite esencial del molle, pero si muestran sensibilidad intermedia en los menores volúmenes de 0.10 ml, 0.15 ml y 0.20 ml, y son sensibles en el volumen mayor de 0.25 ml con una halo de inhibición de 20.50 mm, medida por una regla graduada en centímetros y milímetros.

En la **TABLA N° 10** observamos que las cepas de *Escherichia coli* no presentan resistencia al aceite esencial del molle, pero si muestran

sensibilidad intermedia en los volúmenes de 0.10 ml, 0.15 ml, 0.20 ml y 0.25 ml con halos de inhibición de 14.75 mm, 16.56 mm y 16.62 mm respectivamente, medidas por una regla graduada en centímetros y milímetros.

En la **TABLA N° 11** se observa que el diámetro (mm) del halo de inhibición que fue medida por una regla graduada en centímetros y milímetros, va aumentando a medida que aumenta el volumen del aceite esencial de *Schinus molle*. Las cepas de *Staphylococcus aureus* son más sensibles que las cepas de *Escherichia coli* al mayor volumen de 0.25 ml de aceite esencial de molle.

DISCUSIÒN

En esta investigación, se utilizó el aceite esencial extraído de los frutos del *Schinus molle* “molle” que fueron recolectados en el distrito de Lurigancho-Chosica, en la Provincia de Lima, cultivados a 861 m.s.n.m. Se determinó que el rendimiento del aceite esencial fue de 2.108%, este resultado se encuentra muy bajo en comparación a los resultados obtenidos por **Llanos** en el año 2012, en su investigación “Extracción y caracterización del aceite esencial de Molle (*Schinus molle* L.)” cuyo rendimiento fue de 6,575% y 7.705% para las muestras del Centro Poblado Menor de Los Palos y Tarata respectivamente, esto se puede deber a las diferentes altitudes de las zonas de cultivo; en el distrito de Lurigancho-Chosica existe mayor insolación, suelos deficitarios o con exceso de nutrientes además de la época de recolección. Por lo cual podemos afirmar que el lugar de origen es un factor que influye sobre el rendimiento del aceite esencial de *Schinus molle*, lo cual difiere de la opinión de Llanos, que afirma que el lugar de origen no es un factor que influye sobre el rendimiento del aceite esencial de Molle.

En cuanto a la densidad del aceite esencial del *Schinus molle* fue de 0.862 g/ml, encontrándose muy cercano a los valores que reporta Llanos en su investigación y dentro del rango de densidad de los aceites esenciales.

En este estudio la determinación de la densidad y el índice de refracción del aceite esencial del *Schinus molle* fueron 0.862 g/ml y 1.4815 °Brix respectivamente, estos datos son cercanos a los obtenidos en la investigación de **Moncada** en el año 2013 en Arequipa “Determinación de la composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Schinus molle* (molle) de Arequipa y Moquegua contra *Klebseilla pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*”. La determinación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial del molle se realizó mediante el método por excavación en placa, presentando

mayor sensibilidad frente a cepas de *S. aureus* con un tamaño de halo de inhibición promedio de 20.50 mm en 0.25 ml de aceite esencial, a diferencia de las muestras de Arequipa y Moquegua que dieron una sensibilidad intermedia y resistencia frente a *S. aureus* respectivamente en 0.1 ml de aceite esencial; se puede deducir que a mayor volumen de aceite esencial, mayor será la medida del halo de inhibición.

En la investigación de **Alba et. al.** en el año 2012 “Actividad cicatrizante de una pomada con aceite esencial de *Schinus molle* L. “Molle” en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones” refiere que la pomada formulada con un 2% del aceite esencial, resultó efectiva en comparación con las pomadas que contienen 1,75% y 3,75% del aceite esencial porque presenta mayor poder cicatrizante frente a la pododermatitis y mastitis subclínicas. La mastitis es ocasionada por la bacteria *Staphylococcus aureus*, de esta manera se comprueba el efecto antimicrobiano del aceite esencial del *Schinus molle* frente a esta cepa en estudio.

La identificación de los metabolitos del aceite esencial del *Schinus molle* se realizó mediante el método de Screening Fitoquímico, obteniendo una alta evidencia de flavonoides y una ligera evidencia de taninos, resultado similar a la tesis realizada por **Orozco** en el año 2013 en Ecuador “Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de extractos de molle (*Schinus molle* L.), cola de caballo (*Equisetum arvense* L.) y linaza (*Linum usitatissimum* L.) en ratones (*Mus musculus*)”. Se reportó una alta evidencia de saponinas, a diferencia de la investigación de Orozco que no se obtuvo presencia de saponinas, se puede deducir como factor al aceite esencial extraído del fruto del molle, ya que contiene saponinas en mayor proporción que el extracto alcohólico de las hojas del molle.

El efecto antimicrobiano del aceite esencial del *Schinus molle* de esta investigación se realizó mediante el método de difusión por excavación en placa y se observó la presencia de halos de inhibición frente a las bacterias *Staphylococcus aureus* (Gram positivas) y *Escherichia coli* (Gram negativas), mientras que el estudio realizado por **Cruz et. al.** en el año 2010 en Colombia “Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* y *Silybum marianum*” reporta que se prepararon extractos etanólicos a partir de las hojas, y se evaluó el efecto antibacteriano mediante dos métodos: Difusión en pozo y difusión en disco. El extracto etanólico de las hojas de *B. pilosa* presentó una alta sensibilidad frente a *S. aureus*, los extractos de las hojas de *L. cámara* y *S. molle* presentaron una sensibilidad media frente a *S. aureus*, mientras que las cepas de *E. coli* y *P. aeruginosa* no fueron sensibles frente a ninguno de los extractos ensayados. A partir de esta comparación se puede deducir que la elección del método de ensayo para determinar el efecto antimicrobiano influye en los resultados obtenidos en general.

CONCLUSIONES

1. El aceite esencial del *Schinus molle* presenta una alta evidencia de alcaloides, flavonoides, saponinas, triterpenos y quinonas; una ligera evidencia de compuestos fenólicos y taninos, este último es el metabolito responsable de la actividad antimicrobiana del aceite esencial del *Schinus molle*.
2. El aceite esencial de *Schinus molle* L. "Molle" inhibe el desarrollo de las cepas de *Staphylococcus aureus*, demostrando así mayor sensibilidad al mayor volumen de 0.25 ml, presentando un tamaño de halo de inhibición promedio de 20.50 mm.
3. El aceite esencial de *Schinus molle* L. "Molle" inhibe el desarrollo de las cepas de *Escherichia coli*, demostrando así mayor sensibilidad al mayor volumen de 0.25 ml, presentando un tamaño de halo de inhibición promedio de 18.62 mm.

RECOMENDACIONES

1. Promover el cultivo del *Schinus molle* en el Perú, que la información de sus propiedades terapéuticas sea mayor que su utilización como linderos.
2. Incentivar la mayor investigación posible sobre las especies vegetales, de esta manera dar mayor atención a la medicina alternativa como opción para los casos de medicamentos con resistencia antibacteriana.
3. Desarrollar ensayos sobre la estabilidad y almacenamiento del aceite esencial del *Schinus molle* para su posible uso en preparaciones galénicas como antimicrobiano.
4. Realizar estudios comparativos de eficacia entre las plantas del género *Schinus*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Oficina de Epidemiología y Salud Ambiental, Ministerio de Salud del Perú. Boletín Epidemiológico 2014; URL disponible en: <http://www.hsr.gob.pe/epidemiologia/boletin/2014/bol-01-2014.pdf>. (Fecha de acceso: 04 de julio del 2016).
2. Llanos Arapa S. **Extracción y caracterización del aceite esencial de Molle (*Schinus molle* L.)**. [Tesis de grado]. Tacna: Universidad Nacional JORGE BASADRE GROHMANN; 2012.
3. Moncada Valerio F. **Determinación de la composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Schinus molle* L. (molle) de Arequipa y Moquegua contra *Klebseilla pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus***. [Tesis de grado]. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2013.
4. Alba González A, Bonilla Rivera P, Arroyo Acevedo Jorge. **Actividad cicatrizante de una pomada con aceite esencial de *Schinus molle* L. “Molle” en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones**. ISSN 1561-0861.2009; 12(1): 29-36.
5. Orozco M. **Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de extractos de molle (*Schinus Molle* L.), cola de caballo (*Equisetum arvense* L.) y linaza (*Linum usitatissimum* L.) en ratones (*Mus musculus*)** 2013.
6. Cruz Carrillo A., Rodríguez N., Rodríguez C. **Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* Y *Silybum marianum***. U.D.C.A. Colombia. 2010; 13 (2): 117-124.

7. Luna C. **Distribución e Importancia maderera de la familia *Anacardiáceas* en el Gran Chaco Argentino.** Ra Ximhai [en línea] 2012 septiembre-diciembre [fecha de acceso 10 de abril de 2016]; vol. 8, núm. 3. URL disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/461/46125176007.pdf>
8. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. **Species Plantarum** 1: 388-389. Sistema Nacional de Información Forestal. Mexico: SEMARNAT; 2010.
9. Zegarra Vélchez G. **Actividad deterrente y acaricida de principios activos de quinuas amargas, aceites esenciales y tarwi.** [Tesis de grado]. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2010.
10. Viturro C. Bandoni A. Dellacassa E. Atti L. Elder E. **Problemática *Schinus* en Latinoamérica.** En: Normalización de Productos Naturales Obtenidos de Especies de la Flora Aromática Latinoamericana: Proyecto CYTED IV.20. Porto Alegre: EDIPUCRS; 2010. 334p.
11. Kuklinski C. Farmacognosia. **Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.** Barcelona: Omega; 2003.
12. *Staphylococcus aureus*: **Vieja bacteria con nuevos trucos** [editorial]. Rev. chil. Infectol. 2009 v.26 n.5 Santiago.
13. Gualtieri M, Araque M, Carmona, García M, Di Bernardo M, Rios N, et al. **Actividad antibacteriana del *Schinus molle* L. cultivado en Italia.** INHRR [en línea] 2012 Diciembre [fecha de acceso 13 de octubre de 2015]; 43 (2). URL disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04772012000200002

14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. USA: 2014. Vol. 34 No. 1.

ANEXOS

ANEXO N° 1

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta conocida como "MOLLE", proporcionada por; SHIRLEY ROJAS BERMEO, ha sido estudiada científicamente y determinada como Schinus molle y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Sapindales
Familia: Anacardiaceae
Género: Schinus
Especie: Schinus molle L.

Se expide la presente certificación a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Lima, 12 Octubre 2016.


Blgo. Hamilton Beltrán

.....
Hamilton Wilmer Beltran Santiago
Biólogo - Botánico
C.B.P. 2719

Foto N° 12: Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del Schinus molle a un volumen de 0.1 ml frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)



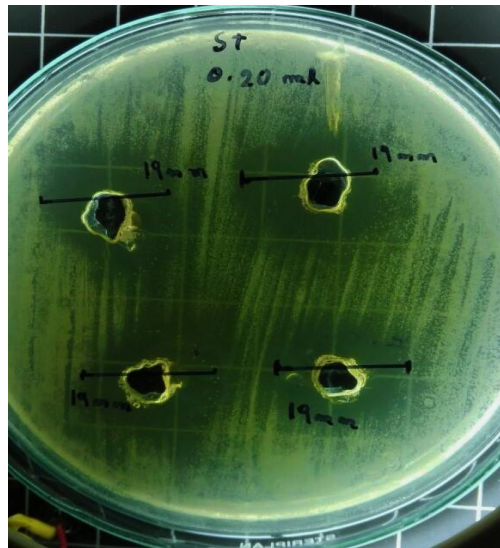
Fuente y elaboración propia

Foto N° 13: Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del Schinus molle a un volumen de 0.15 ml frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)



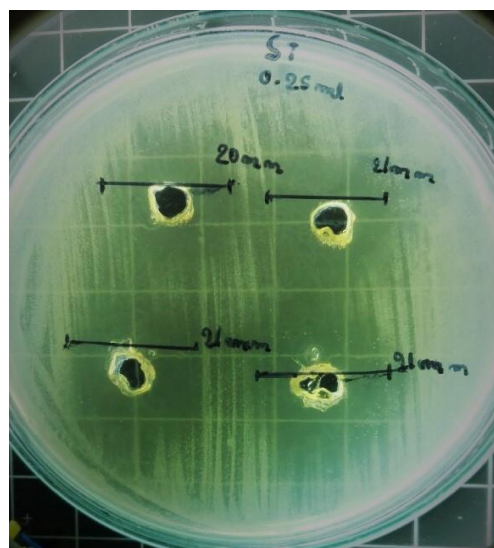
Fuente y elaboración propia

Foto N° 14: Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del Schinus molle a un volumen de 0.2 ml frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)



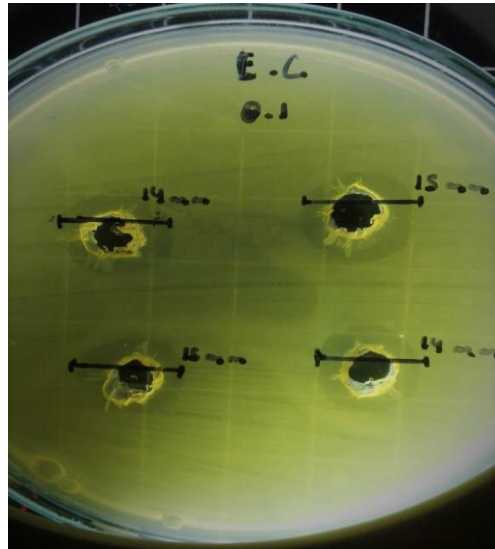
Fuente y elaboración propia

Foto N° 15: Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del Schinus molle a un volumen de 0.25 ml frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)



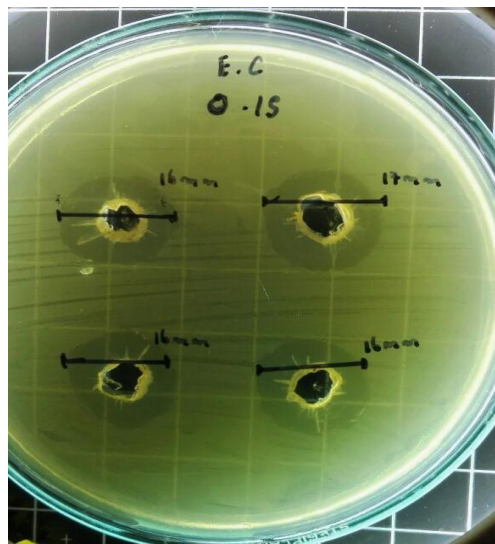
Fuente y elaboración propia

Foto N° 16: Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del Schinus molle a un volumen de 0.1 ml frente a cepas de *Escherichia coli* (ATCC 35218)



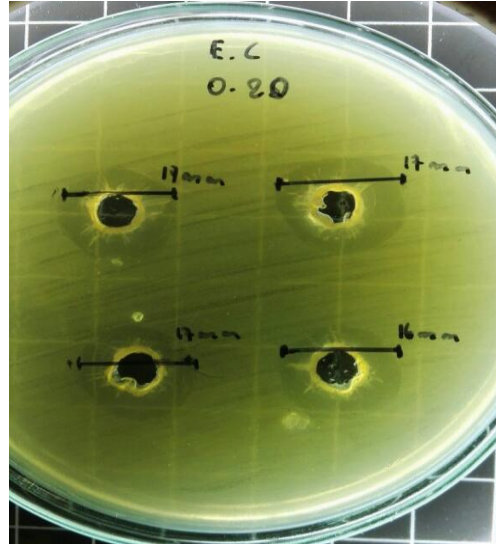
Fuente y elaboración propia

Foto N° 17: Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del Schinus molle a un volumen de 0.15 ml frente a cepas de *Escherichia coli* (ATCC 35218)



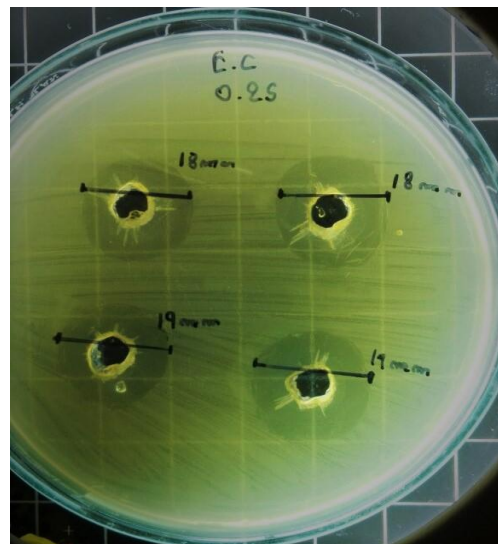
Fuente y elaboración propia

Foto N° 18: Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del Schinus molle a un volumen de 0.2 ml frente a cepas de *Escherichia coli* (ATCC 35218)



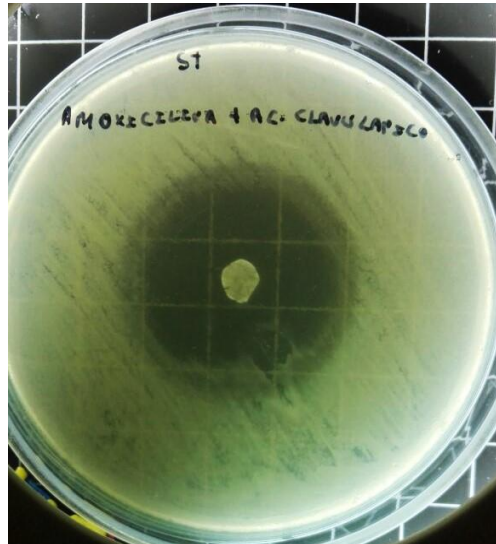
Fuente y elaboración propia

Foto N° 19: Medición de los halos de inhibición del efecto antimicrobiano del aceite esencial del Schinus molle a un volumen de 0.25 ml frente a cepas de *Escherichia coli* (ATCC 35218)



Fuente y elaboración propia

Foto N° 20: Medición del halo de inhibición del control positivo con Amoxicilina/Acido Clavulánico frente a cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)



Fuente y elaboración propia

Foto N° 21: Medición del halo de inhibición del control positivo con Amikacina frente a cepas de *Escherichia coli* (ATCC 35218)



Fuente y elaboración propia