UEA Biología
PrePrint UEA

Sección Biología
Vol. BIO2324. ep08–55

| Recibido: 13/03/2024 |
| Aceptado: 15/04/2024 |
| Publicado: 10/11/2026 |

Evaluación in vitro de la actividad antifúngica del aceite esencial de la especie *Bixa orellana L.* frente a *Candida albicans* ATCC 10231

In vitro evaluation of the antifungal activity of the essential oil of *Bixa orellana L.* against *Candida albicans* ATCC 10231.

María Coraima Mora García[1], María Belén Cruz Berrú[1] Sandra Luisa Soria Re[1]

https://doi.org/10.59410/PREPRINT-UEA-vBIO2324ep08-55 Crossref

Resumen

Los fitoquímicos son compuestos naturales de plantas con propiedades biológicamente activas, incluyendo efectos antifúngicos. Su potencial para evitar efectos secundarios hace que sean una opción alternativa para el tratamiento de infecciones por hongos. El proyecto se realizó en dos etapas: a) Recolección de hojas de *B. orellana* en la parroquia Canelos, Puyo, Provincia de Pastaza; b) El trabajo experimental se realizó en las instalaciones de los laboratorios de la Universidad Estatal Amazónica, campus Puyo. El material vegetal fue lavado, seleccionado, secado y triturado para determinar el peso seco (%), sólidos totales, composición fitoquímica, obtención y caracterización del aceite esencial y la prueba biológica. Cabe señalar que el peso seco del material vegetal fue de 27,85%, en las hojas deshidratadas y molidas hubo 21,95% de sólidos totales y el rendimiento del aceite esencial fue de 0,04%. Además, el análisis fitoquímico sugirió la presencia de flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, carbohidratos, quinonas y aminoácidos, que podrían estar relacionados con la actividad biológica. Los componentes del aceite esencial fueron identificados y caracterizados, mediante la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), siendo el β-cariofileno el principal componente con una concentración de 10,31%. Además, se evaluó la actividad antifúngica del aceite esencial contra *Candida albicans,* demostrando su eficacia en la inhibición de este microorganismo.

Palabras clave

composición fitoquímica, β-cariofileno, inhibición microbiana, actividad biológica.

Abstract

Phytochemicals are natural plant compounds with biologically active properties, including antifungal effects. Their potential to avoid side effects makes them an alternative option for the treatment of fungal infections. The project was carried out in two stages: a) Collection of leaves of *B. orellana* in the parish of Canelos, Puyo, Pastaza Province; b) The experimental work was performed in the lab facilities of the Universidad Estatal Amazonica, Puyo campus. The plant material was washed, selected, dried, and crushed to determine the dry weight (%), total solids, phytochemical composition, obtaining and characterizing the essential oil, and the biological test. It should be noted that the dry weight of the plant material was 27.85%, there were 21.95% of total solids present in the dehydrated and ground leaves, and the yield of the essential oil was 0.04%. Furthermore, phytochemical screening suggested the presence of flavonoids, alkaloids, phenolic compounds, tannins, carbohydrates, quinones and amino acids, which could be related to biological activity. The components of the essential oil were identified and characterized, using the gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) technique, β-caryophyllene being the main component with a concentration of 10.31%. In addition, the antifungal activity of the essential oil against Candida albicans was evaluated, demonstrating its efficacy in inhibiting this microorganism.

Keywords

phytochemical composition, β-caryophyllene, microbial inhibition, biological activity.

Direcciones

[1]Universidad Estatal Amazónica. Pastaza, Ecuador. Email: mc.morag@uea.edu.ec, mb.cruzb@uea.edu.ec, ssoria@uea.edu.ec

Autor para la correspondencia

María Coraima Mora García. Universidad Estatal Amazónica. Pastaza, Ecuador. Email: mc.morag@uea.edu.ec

Cómo citar

MORA GARCÍA, María Coraima, CRUZ BERRÚ, María Belén and SORIA RE, Sandra Luisa 2026. **Evaluación in vitro de la actividad antifúngica del aceite esencial de la especie *Bixa orellana L.* frente a *Candida albicans* ATCC 10231** . PrePrint UEA. Vol. BIO2324. p. ep08–55. https://doi.org/10.59410/PREPRINT-UEA-vBIO2324ep08-55

Editores Académicos Elizabeth Del Carmen Ramírez Iglesias

Editorial Editorial de la Universidad Estatal Amazónica 2026

Copyright

Derechos de autor 2026 | PrePrint UEA.
Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución 4.0.
Los autores del artículo autorizan a la RACYT a que este artículo sea compartido bajo las condiciones de la Licencia Creative Commons 4.0 (CC-BY 4.0).

1. Introducción

Ecuador, dividido en cuatro regiones, exhibe una biodiversidad muy grande, debido a sus diversos paisajes. La costa alberga playas, manglares y bosques tropicales con una amplia variedad de especies. La región andina presenta montañas, valles y páramos, con una vida silvestre adaptada a la altitud. La Amazonía es una selva tropical conocida por su abundante flora y fauna, muchas aún no completamente descritas. Las Islas Galápagos, en la región insular, son famosas por su contribución a la teoría de la evolución y por ser hogar de especies endémicas. Estas características convierten a Ecuador en uno de los países más biodiversos del mundo. (Valdez & Cisneros, 2020).

La región amazónica de Ecuador, con su variada vegetación asociada a los bosques tropicales, proporciona un hábitat propicio para el desarrollo de plantas como *Bixa orellana* L. Esta vegetación, influenciada por el clima tropical húmedo, la altitud y la latitud, puede influir en la composición química y las propiedades del aceite esencial de esta especie

(Nogales, 2021). Además, la presencia significativa de comunidades indígenas en esta región puede tener un impacto en la conservación y el conocimiento tradicional sobre las plantas medicinales, incluida *Bixa orellana* L., que podría utilizarse en el tratamiento de infecciones fúngicas como las causadas por Candida albicans (Gray & Bilsborrow, 2020).

La medicina natural en el país se caracteriza por ser una práctica no formal o no convencional, que se fundamenta en la utilización de diversas plantas medicinales para elaborar productos con propiedades terapéuticas (Paz, Miño & Leone, 2022). La ciencia ha desarrollado un campo de estudio dedicado a investigar la flora desde una perspectiva científica, centrándose en sus propiedades fisicoquímicas y biológicas. Este campo, conocido como fisiología vegetal, busca comprender los mecanismos y procesos que subyacen a las propiedades medicinales de las plantas, lo que contribuye a validar y ampliar el conocimiento sobre su uso tradicional en el tratamiento de enfermedades (URACCAN, 2018).

A pesar del avance de la medicina moderna global, una parte significativa de la población en países en desarrollo aún depende de las plantas medicinales para su atención sanitaria. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que un considerable porcentaje de la población mundial confía en la medicina tradicional. En este contexto, las plantas juegan un papel crucial en los sistemas de salud pública. Desde tiempos antiguos hasta la actualidad, diversas civilizaciones han utilizado plantas para tratar enfermedades humanas, consolidando así la fitoterapia como la forma más antigua de medicina (Ducel et al., 2002).

En la actualidad, se han encontrado especies promisorias de uso etnofarmacológico, motivo por el cual son utilizadas como antibióticos, para el tratamiento de infecciones fúngicas y/o bacterianas por la actividad biológica, según el caso. La especie *Bixa orellana* L. o achiote, cultivada en varias zonas del país, es un ejemplo. Es originaria de la América Tropical alcanza una altura de 4 a 10 m. La característica más distintiva es el fruto en forma de cápsula, que contiene numerosas semillas cubiertas con un arilo rojo intenso, apreciadas tanto por su uso culinario como por su pigmento rojo característico. Sin embargo, el potencial biológico y medicinal aún requiere investigación. También el acontecimiento de la resistencia a medicamentos ha impulsado al desarrollo de nuevas investigaciones utilizando productos naturales como fuentes de moléculas bioactivas (Hossain et al., 2022).

La *Cándida Albicans* es una levadura, es decir, son hongos microscópicos que viven dentro del tracto intestinal de una persona. Asimismo, estos hongos cumplen un papel fundamental dentro de nuestro aparato digestivo y cumple funciones importantes, como mantener el equilibrio intestinal, suprimir restos de carbohidratos mal absorbidos y brindar un pH equilibrado para nuestra sangre. Síntomas de la candidiasis intestinal (SYNLLAB, 2023).

Candida albicans, un microorganismo ubicuo, es un componente habitual del microbiota humano en el tracto gastrointestinal, urinario y genital. Este hongo se clasifica como un patógeno oportunista y puede causar enfermedades conocidas como çandidosis.º çandidiasis". Provocando infecciones fúngicas, especialmente en individuos inmunosuprimidos o bajo tratamientos prolongados con antibióticos. A pesar de que la mayoría de las infecciones son de origen endógeno, existe la posibilidad de transmisión interhumana, como la vía vaginal de la madre al hijo, y también puede adquirirse en entornos hospitalarios (Martínez, 2010).

Uno de los principales problemas que enfrentan las mujeres en edad reproductiva son las infecciones vaginales causadas por microorganismos infecciosos en la que se encuentra el hongo *Candida albicans,* atacando a la piel y tejidos blandos en pacientes vulnerables, donde su mecanismo inmunológico se encuentra afectado (Zolin *et al.*, 2021). Así, se dificulta el tratamiento dado a su estado, y en dependencia a dónde se encuentre adherido puede verse alterado por el pH y la temperatura, causando infecciones en pacientes con microbiota vaginal baja y/o inmunodeficientes.

La inhibición del crecimiento de *Candida albicans* mediante el uso de aceites esencialeses representa un área de investigación crucial en el campo de la microbiología y la medicina. La actividad biológica de estos aceites, que abarca propiedades antioxidantes, antifúngicas y antimicrobianas, está estrechamente ligada a su composición química, en particular a la presencia de monoterpenos con reconocida actividad antiséptica (Marcanno & Masahisa, 2002) **.**

Las víctimas al acceder al sistema de salud cruzan por numerosas dificultades para controlar las infecciones causadas por *Candida albicans*, además de encontrarse limitados los medicamentos antifúngicos. Por ello, esta investigación se centra en la evaluación de la actividad antifúngica de *Bixa orellana* frente al hongo patógeno para disminuir el uso de medicamentos sintéticos con ello eliminar y, consecuentemente, regular su proliferación. Por otro lado, contribuirá al enfoque investigativo como al área de medicina en futuras proyecciones. Por lo tanto, el objetivo de la investigación es evaluar la actividad antifúngica del aceite esencial de la especie *Bixa orellana* L. sobre la cepa *Candida albicans* ATCC 10231.

2. Metodología

El presente trabajo se desarrolló en dos etapas;
a) Recolección de hojas de *Bixa orellana* L**.**
b) Trabajo experimental.

2.1. Localidad de colecta del material Biológico



Figura 1 | Mapa de la ubicación de la parroquia Canelos

La recolección del material vegetal fue realizada en la parroquia Canelos, cantón Puyo, Provincia de Pastaza, en las coordenadas geográficas 1°10 Latitud Sur y 78° 10 de Longitud Oeste; 2° 35 de Latitud Sur y 76° 40 de Longitud Oeste (**Figura 1**). *2.2. Trabajo experimental*

El trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios de Química, Biología, Microbiología y Bromatología pertenecientes a la Universidad Estatal Amazónica, ubicada en el Km. $2\frac{1}{2}$, vía Puyo - Tena (Paso Lateral), Puyo, Pastaza, Ecuador, que corresponden a las coordenadas geográficas 1° 28' 2" Sur, 77° 59' 48" Oeste **(Figura 2).**



Figura 2 | Mapa de ubicación de la Universidad Estatal Amazónica

2.3. Material biológico

Material vegetal: Las hojas ovaladas de *Bixa orellana*, fueron colectadas de una muestra representativa de árboles adultos que tenían 7 m de altura en promedio, en la parroquia Canelos.

Microorganismo empleado: *Candida albicans* ATCC 10231.

2.3.1. Recolección del material vegetal

La recolección de la especie vegetal se realizó en agosto y septiembre de 2023, durante la fase de fructificación. El material utilizado consistió en hojas seleccionadas cuidadosamente y sometidas a un proceso de lavado para eliminar posibles contaminantes.

2.4. Procesamiento del material vegetal

2.4.1. Clasificación

Se seleccionaron las hojas en buen estado, eliminándose las que se encontraban con manchas, con signos de ataque de insectos, hongos o deterioradas.

2.4.2. Lavado y secado

Las hojas previamente clasificadas fueron sometidas a un proceso de lavado meticuloso utilizando agua destilada. Después, se colocaron en bandejas de plástico para permitir el drenaje completo del agua residual del lavado. Las muestras se secaron a temperatura ambiente y bajo sombra durante 24 horas.

2.4.3. Molinado

Después de desecar las hojas, se tomó una cantidad inicial de material de hojas secas y se pulverizaron utilizando un molino Thomas-Wiley® modelo 4. El material resultante se utilizó para análisis posteriores.

2.4.4. Peso seco

Se empleó el método de determinación de humedad del material vegetal propuesto por la (Association of Official Analytical Chemists, 2010), utilizando una estufa Barnstead ® a una temperatura que oscila entre 35 - 40°C durante un período de 24 horas aproximadamente. Con los pesos de la muestra antes y después del proceso de la deshidratación se determina el peso seco en porcentaje y el valor complementario corresponde al porcentaje de humedad **(Ecuación 1).**

$$DW(\%) = \frac{Pf}{Pi} * 100 \quad (1)$$

Donde:

Pi: Peso inicial

Pf: Peso final

DW: Peso seco

2.4.5. Sólidos totales

El análisis de sólidos totales comenzó con el lavado y secado de la muestra, seguido por un baño de vapor utilizando el equipo Thermo Precisión 2870. Luego, se filtró la muestra con ayuda de un papel filtro antes de proceder al pesado de las cápsulas de porcelana marca Fisher®, previamente pesadas. Estas cápsulas fueron llenadas con el material vegetal para su posterior análisis. Este procedimiento, desarrollado por la (Association of Official Analytical Chemists, 2010), continúa con la exposición de las cápsulas, junto con 5 ml del extracto y se colocó a una temperatura de 105°C durante 3 horas. El tiempo de exposición se monitorea para mantener la humedad dentro de un rango óptimo, que oscila entre el 19% y 26% **(Ecuación 2).**

Porcentaje de sólidos totales determinada mediante la siguiente fórmula

$$ST = \frac{W1 - W}{V} * 100 \quad (2)$$

Donde:

ST: Sólidos totales

W1: Masa del residuo

W: Masa de la cápsula vacía

V: Volumen de la solución

2.5.Composición fitoquímica de Bixa orellana L.

2.5.1. Tamizaje fitoquímico

En tres matraces Erlenmeyer Pyrex® se colocaron 5 g de muestra vegetal. Luego, se añadieron 100 mL de alcohol al 96%, 100 mL de agua destilada y 100 mL de éter dielítico. La muestra se dejó en maceración durante 24 horas para realizar pruebas cualitativas, siguiendo la metodología propuesta por Prujol et al. (2020). El tamizaje fitoquímico permitió la identificación de: saponinas mediante la prueba de espuma, flavonoides por medio del ensayo con hidróxido de sodio (NaOH) al 20%, taninos y compuestos fenólicos a través de la reacción con cloruro férrico 1%.

2.5.2. Identificación de saponinas: prueba de espuma

Se tomaron 3 tubos de ensayo y los cuales se les añadió uno 1 mL de cada extracto, posteriormente se adicionan 9 mL de agua destilada, se agitó vigorosamente durante 30 segundos y se dejó reposar por 10 minutos. La presencia de saponinas se indica por la formación de una espuma persistente durante 3 minutos (Hernández & Arambarri, 2019).

2.5.3. Identificación de flavonoides con NaOH 20%

Se tomaron tres tubos de ensayos y en los que se añadió 1 mL de cada extracto. A cada tubo se agregó tres gotas de NaOH al 20%. Luego se agitó vigorosamente durante tres segundos y se dejó reposar por 10 minutos.

La detección de flavonoides en una muestra puede estar indicada por un cambio de coloración según (Colina, 2016). Los flavonoides son conocidos por su capacidad para reaccionar con ciertos reactivos químicos y producir cambios visibles en el color de la solución, lo que se utiliza a menudo como un método rápido y sencillo para identificar su presencia en extractos vegetales u otras muestras. Este método de detección basado en cambios de color ha sido ampliamente utilizado en investigaciones relacionadas con la identificación de compuestos fenólicos como los flavonoides.

2.5.4. Identificación de taninos y compuestos fenólicos: reacción con cloruro férrico 1%

En tres tubos de ensayos se añadió una alícuota de 1 mL de cada extracto, luego se agregó 1,5 mL de cloruro férrico. Se agitó vigorosamente durante 30 segundos y se dejó reposar por 10 minutos. Una coloración rojo-vino, es indicativo a la presencia de compuestos fenólicos. Una coloración verde intensa, indica la presencia de taninos del tipo pirocatecólicos y una coloración azul, es indicativo para taninos del tipo pirogalol, derivados del ácido gálico (Colina, 2016).

2.5.5. Obtención del aceite esencial

Se realizó mediante el método de arrastre con vapor, el cual se basa en separar el material volátil a través del vapor que atraviesa por el material vegetal provocando su separación. El material vegetal fue particionado ubicando 1 kg en el extractor, el proceso extractivo se mantiene durante 3 horas. Finalmente se utilizó un embudo de decantación para obtener la separación del aceite esencial extraído por el vapor de agua **(Ecuación 3)**, (Villaverde, 2018).

$$\%R = \frac{v(mL)}{p\ (gr)} * 100 \qquad (3)$$

Donde:

%R: Porcentaje del rendimiento

V: Volumen

P: Peso del aceite obtenido

2.5.6. Caracterización del aceite esencial de Bixa orellana (cromatografía)

Para determinar los compuestos químicos presentes en el aceite esencial, se empleó la metodología de cromatografía de gases (GC), de la marca Shimadzu, modelo GCMS QP2020 NX. Permitió obtener resultados cualitativos y cuantitativos. Las condiciones de análisis en las que se trabajó fueron las siguientes: temperatura del análisis de cromatografía de gases (GC): 250.0°C; volumen de inyección: 1 μL; gas de arrastre: helio

(99,9995%); flujo de fase móvil: 1,10 mL/min;; velocidad lineal: 40 cm/s; flujo de purga: 3,00 mL/min y proporción de división: 20,00, fase estacionaria: sílice fundida.

Para realizar el análisis, se procedió a la preparación de la muestra mediante la disolución de 0,5 mL de aceite esencial extraído de *Bixa orellana* en 4,5 mL de hexano de calidad HPLC. Luego, se inyectó 1 μL de esta solución en el inyector del cromatógrafo. El análisis se inició con un incremento gradual de la temperatura desde 55°C hasta 100°C, a una velocidad de aumento de 1°C por minuto. Posteriormente, la temperatura se aumentó desde 100°C hasta 250°C a una velocidad de 5°C por minuto, y se mantuvo constante durante 15 minutos. En total, el análisis se llevó a cabo durante un período de 30 minutos, durante el cual se registraron los cromatogramas con los picos cromatográficos correspondiente a cada compuesto separado.

2.6. Ensayo biológico

2.6.1. Metodología de inoculación para evaluación antifúngica

Comprendida por el método de dispersión, la metodología implica la inoculación de cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 en cajas Petri.

2.6.2. Unidades de análisis en estudios antifúngicos

La unidad de análisis la constituyeron los discos de difusión y las cajas Petri observadas.

2.6.3. Interacción antifúngica Candida albicans - Bixa orellana

Unidades formadas por colonias de *Candida albicans* ATCC 10231 y el resultado antifúngico del extracto del aceite de *Bixa orellana* L.

2.6.4. Obtención de la cepa

La cepa se obtuvo de los laboratorios de la empresa Medibac, ubicada en Guayaquil y conservada en refrigeración a una temperatura de -80 °C en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Estatal Amazónica, Puyo.

2.6.5. Preparación de la cepa

Tras la obtención de la cepa, se procedió a su reactivación mediante la incubación en tubos de ensayo sellados, utilizan-

do medio Agar Papa Dextrosa (APD, **BD** Bioxon®) disuelto a una concentración de 39 g/L de agua, a una temperatura de 30 °C durante un periodo de 48 horas, específicamente en el caso de *Candida albicans* ATCC 10231. Posteriormente, se preparó el medio APD suspendiendo 39 g en 1 L de agua destilada y desionizada, el cual fue hervido hasta alcanzar la disolución completa. Luego, el medio fue esterilizado a 121 °C por 15 minutos y distribuido en los recipientes adecuados para su posterior uso (Manual BioCen de Medios de Cultivo, 2018).

2.6.6. Método de difusión en agar

El método Kirby-Bauer se utilizó para obtener la inhibición del crecimiento fúngico, determinando la sensibilidad del hongo patógeno frente a un antibiótico, evidenciándose por la formación de halos alrededor de las colonias. Se realizó el ensayo a partir de la utilización de APD y del aceite esencial obtenido frente a *Candida albicans* ATCC 10231. El experimento se realizó en triplicado (Bauer et al., 1966).

2.6.7. Preparación del inóculo

Para diluir la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 se preparó caldo de cultivo Sabouraud dextrose a una concentración de 30 g/L, hasta conseguir una suspensión semejante a la turbidez 0,5 de acuerdo con el estándar de McFarland que equivale a una concentración del 1,5 x 108 UFC/mL. La **Tabla 1** reporta la escala de turbidez de McFarland el cual es un método clásico que implica la preparación de estándares a partir de la reacción entre cloruro de bario y ácido sulfúrico, son utilizados como punto de referencia en suspensiones bacteriológicas para determinar la densidad de bacterias por mililitro, o unidades formadoras de colonias (UFC), según una escala que va de 0,5 a 10. Estos estándares se generan mediante la combinación de soluciones de cloruro de bario al 1% con ácido sulfúrico al 1% en volúmenes específicos, y para garantizar la densidad correcta, se puede controlar utilizando espectrofotómetros (McMeekin et al., 1997).

Tabla 1 | Escala McFarland

Patrón	H_2SO_4 (1%) mL	$BaCl_2$ (1,18 %) mL
0,5	24,875	0,125
1	24,75	0,25
2	24,5	0,5
3	24,25	0,75
4	24,00	1,00
5	23,75	1,25
6	23,5	1,5
7	23,25	1,75
8	23,00	2,00
9	22,75	2,25
10	22,5	2,5

2.7. Siembra

2.7.1. Determinación del efecto inhibitorio (Prueba de susceptibilidad)

Para el análisis del efecto inhibitorio del aceite esencial de achiote, se realizó la prueba en placas empleando el procedimiento de dilución seriada de *Bixa orellana.* (**Figura 3**). Las soluciones obtenidas fueron incubadas a 4°C para su posterior análisis microbiológico.

Se ejecutó con meticulosidad la prueba de susceptibilidad mediante el método de Kirby-Bauer (Bauer et al., 1966) en tres repeticiones independientes. Se dispusieron con precisión los discos esterilizados de papel de filtro, de 5 mm de diámetro, impregnados con 20 μL del aceite esencial, en el centro de cada caja Petri sobre el cultivo de *Candida albicans* ATCC 10231. Para garantizar la integridad del medio, cada caja se selló usando Parafilm®. Como referente de control, se optó por la Nistatina a 20 μL. Finalmente, las placas fueron incubadas a 37 °C durante 48 horas.

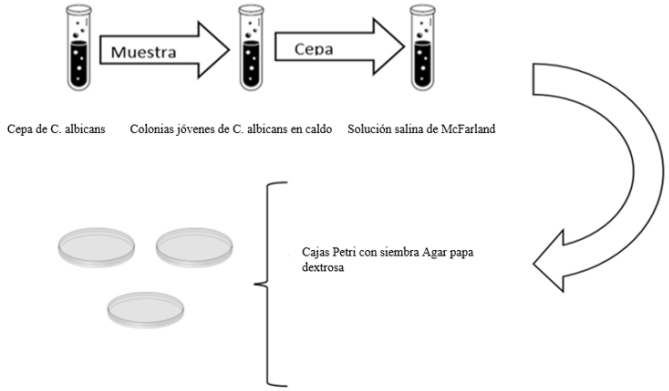

Figura 3 | Inóculo de Cándida albicans ATCC 10231 y cajas Petri con APD

3. Resultados y discusión

En el presente trabajo se utilizó 6,8 kg *Bixa orellana* L, recolectado en la parroquia Canelos **(Tabla 2).**

Tabla 2 | Datos obtenidos del peso y secado de las hojas de Bixa orellana L

Material vegetal	Peso
Peso inicial antes del lavado	6789,23 g
Peso inicial antes del secado	5691,26 g
Peso final después del secado	1585,12 g

Para la especie *Bixa orellana,* se logró una eliminación del 72,15% de humedad, lo que resultó en un peso seco del 27,85%. Este resultado proporcionó una estimación precisa del contenido de materia seca presente en la muestra, una vez eliminada la humedad.

3.1. Sólidos totales

Los sólidos totales implican varios métodos de análisis, dependiendo del tipo de muestra y del propósito del análisis **(Ecuación 4).**

$$ST = \frac{6789,23 - 561,26}{5} * 100 \quad (4)$$

ST= 21,95%

El propósito principal de este ensayo es cuantificar la concentración de sólidos totales presentes en el extracto, la cual se ha calculado alcanza el 21,95%.

3.2.Tamizaje fitoquímico de metabolitos de Bixa orellana L.

La evaluación cualitativa realizada por la metodología del tamizaje fitoquímico para las hojas de *B. orellana* permitieron determinar la presencia de los metabolitos que aparecen indicados en la **Tabla 3**.

Tabla 3 | Resultados del tamizaje fitoquímico para Bixa orellana

Metabolitos	Extracto acuoso	Extracto etanólico
Saponinas	-	-
Flavonoides	+++	++
Alcaloides	++	-
Fenólicos	+++	++
Taninos	++	++
Carbohidratos	++	+++
Aminoácidos	++	+++
Quinonas	-	++
Triterpenos y/o esteroides	-	-

3.3. Obtención del aceite esencial

La extracción del aceite esencial se llevó a cabo mediante el método de arrastre con vapor, obteniendo un producto con una tonalidad amarillo claro y con un aroma intenso. El rendimiento se calculó mediante la **Ecuación 5**.

$$\%R = \frac{1,31\ mL}{2768,42\ g} * 100 \quad (5)$$

$$\%R = 0,04\% \quad (6)$$

Como resultado, se obtuvo un rendimiento del 0,04%. El valor representa la cantidad de aceite esencial obtenido en relación con la cantidad de material vegetal utilizado en el proceso de extracción.

3.4. Análisis cromatográfico. Espectrometría de masas

El análisis por GC-MS del aceite esencial de las hojas *B. orellana* L., resultó en la identificación de un total de 60 compuestos, representando aproximadamente el 99,99% del área total del cromatograma que se muestra en la **Figura 4.**

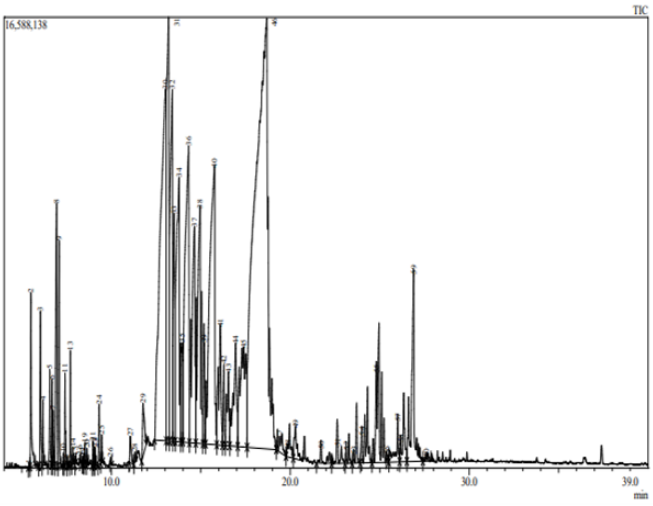

Figura 4 | Cromatograma del aceite esencial de Bixa Orellana (achiote)

Los ensayos de caracterización cualitativa realizados al extracto etanólico de las hojas frescas de *Bixa orellana* indican la presencia de flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos y aminoácidos, los cuales son componentes reportados dentro de la fitoquímica de la especie. Mediante el método de difusión en disco Kirby-Bauer que actualmente recomienda el Comité de Ensayos de Susceptibilidad del Laboratorio Internacional de Referencia (Nacional Committee for Clinical Laboratory Standards o NCCLS), se estudió la capacidad inhibitoria del aceite frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Los resultados de la evaluación de la actividad antifúngica del aceite esencial de *B. orellana* frente a *Candida albicans* se muestra en la figura 4 donde se evidencia la respuesta de inhibición del aceite esencial junto con el control.

3.5. Resultados microbiológicos

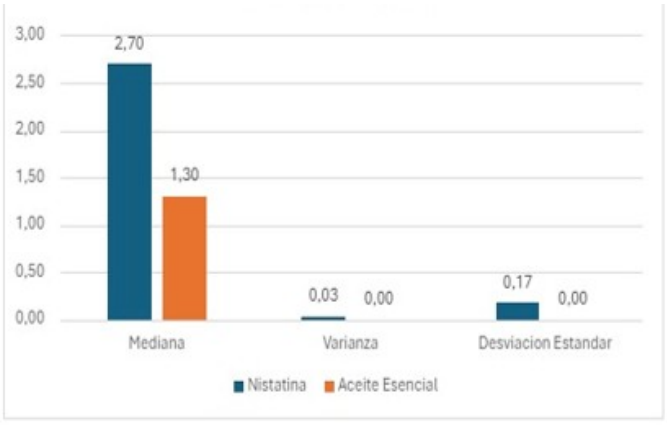

Figura 5 | Porcentaje de inhibición de Candida albicans por el aceite esencial de hojas de Bixa orellana

En la **Figura 5** se muestran los resultados promedio obtenidos del ensayo antifúngico preliminar utilizando aceite esencial extraído de hojas de *Bixa orellana*, donde los resultados indican una notable inhibición en el crecimiento de *Candida albicans,* lo que evidencia una reducción significativa en el desarrollo del hongo, demostrando así la eficacia del aceite esencial en comparación con la Nistatina, con una eficiencia del 48% en relación con el resultado del medicamento.

Tabla 4 | Composición química del aceite esencial de las hojas de B. orellana L

Número de pico	Tiempo de retención (minutos)	Área (%)	Componente	Masa molar (g/mol)
1	5,380	0,02	α-tujeno	136,23
2	5,500	0,79	Camfeno	136,24
3	6,033	0,60	β-Pineno	136,24
4	6,171	0,23	β-Mirceno	136,24
5	6,561	0,37	o-Cimeno	134,21
6	6,686	0,26	Limoneno	136,24
7	6,742	0,22	α-Pineno	136,23
8	6,940	1,65	Nerolidol	120,2
9	7,083	0,97	γ-Terpineno	136,24
10	7,327	0,03	p-Cimeno	132,2
11	7,409	0,34	4-Isopropilideno-1-ciclohexeno	108,19
12	7,560	0,01	ácido 3,5-dimetilhexanoico	144,21
13	7,706	0,32	E-4,8-dimetilnona-1,3,7-trieno	138,25
14	7,850	0,05	E,Z-2,6-dimetilocta-2,4,6-trieno	120,2
15	8,001	0,02	Citronelal	154,25
16	8,246	0,02	Borneol	154,25
17	8,396	0,02	Terpinen-4-ol	154,25
18	8,476	0,02	Salicilato de metilo	152,15
19	8,522	0,08	α-Terpineol	154,25
20	8,649	0,06	2,6-dimetilocta-3,5,7-trien-2-ol	154,25
21	8,969	0,08	Citronelo	156,27
22	9,064	0,05	Neral	154,25
23	9,100	0,05	Norcaradieno	136,24
24	9,322	0,22	Geraniol	154,25
25	9,462	0,09	Citral	152,24
26	9,958	0,02	Ciproteno	204,38
27	11,056	0,19	γ-Elemeno	204,38
28	11,308	0,05	α-Cubebeno	204,38
29	11,771	0,50	Bicclogermacreno	204,38
30	13,020	10,31	β-Cariofileno	204,38
31	13,198	4,94	α-Santaleno	204,35
32	13,404	4,26	Trans-Alfa-Bergamoteno	204,35
33	13,509	1,91	Bciclo[2,2,1]heptano	204,38
34	13,790	4,19	β-Santaleno	204,35
35	13,951	0,91	1-Metil-4-(6-metilhept-5-en-2-il)ciclohexa-1,3-dieno	204,35
36	14,319	5,73	Trans-β-Bergamoteno	204,35
37	14,653	3,51	β-Curcumeno	202,34
38	14,954	4,13	Ciclohexeno, 3-(1,5-dimetil-4-hexenil)-6-metileno-, [S-(R*,S*)]-	204,38
39	15,192	0,76	2-Naftalenmetanol, decahidro-α,α,4a-trimetil-8-metileno-, [2R-(2α,4α,8β)]-	222,37
40	15,756	7,21	Nerolidol	222,37
41	16,097	1,54	Óxido de β-cariofileno	220,35
42	16,290	0,45	Guaiol	222,37
43	16,551	0,82	(1R,4R)-1-Metil-4-(6-metilhept-5-en-2-il)ciclohex-2-enol	210,35
44	16,945	1,74	β-Acorenol	222,37
45	17,408	3,14	Dehidrosesquicineol	218,33
46	18,659	27,54	Dihydroedulan	220,35
47	19,429	0,35	Xanthorhizol	234,32
48	19,880	0,36	Ageratriol	238,31
49	20,308	0,43	Z-α-Trans-bergamotenol	220,35
50	21,747	0,26	α-Cubebeno	204,38
51	22,665	0,41	Copaeno	204,35
52	23,162	0,24	3E-Muurola-3,5-dieno	204,35
53	23,563	0,40	Biflora-4,10(19),15-trieno	272,45
54	24,015	0,92	Biflora-4,10(19),15-trieno	272,45
55	24,829	2,39	Biflora-4,10(19),15-trieno	272,45
56	25,415	0,03	Hexacosanal	380,7
57	26,025	0,52	(6Z,10Z)-Geranil linalol	290,48
58	26,193	0,71	Geranyl-α-Terpinene	272,45
59	26,903	2,46	Fitosol	296,54
60	27,615	0,09	all-trans-13,14-Dihydro Retinol	286,47

El análisis del aceite esencial de hojas de *B. orellana* L. reveló una compleja composición química con diversos compuestos identificados. Entre los principales componentes por su abundancia relativa se destacaron Dihydroedulan (27,54%), β-Cariofileno (10,31%), Nerolidol (7,21%), Trans-β-Bergamoteno (5,73%) y α-Santaleno (4,94%). Esta composición sugiere una significativa presencia de sesquiterpenos, lo que indica que el grupo de hidrocarburos sesquiterpénicos (SH) es particularmente representativo. El listado completo de compuestos identificados y sus abundancias relativas se muestra en la **Tabla 4**.

Considerando que el microorganismo C fue utilizado como control, representando la acción de la Nistatina, y el microorganismo A fue asignado al grupo experimental tratado con el aceite esencial de *B. orellana*, los resultados de la siembra de microorganismos evidenciaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo experimental **(Figura 6).**

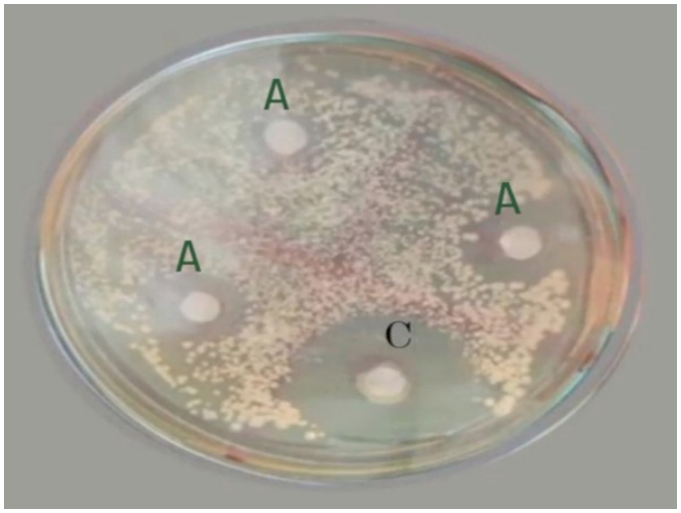

Figura 6 | Evaluación del efecto antifúngico del aceite de Bixa orellana (achiote) sobre Candida albicans, en comparación con el control positivo (+)

3.6. Discusión

Las plantas tienen un profundo valor en el desarrollo de nuevos y novedosos productos con amplias acciones farmacológicas, entre ellas es de gran relevancia la actividad antimicrobiana. Los compuestos químicos producidos por las plantas en general y más por aquellas consideradas como aromáticas sirven para ejercer un mecanismo de autoprotección, ya que son una fuente potencial de sustancias antimicrobianas de baja toxicidad y amigables con el ambiente (Mutlu-Ingok, et al., 2020). De estos compuestos, los aceites esencialeses y sus componentes han despertado la atención científica en las últimas décadas por su actividad como antimicrobianos, por su actividad contra una amplia gama de hongos, bacterias, virus y otros organismos (Mutlu-Ingok, et al., 2020).

Estudios como el de (León & Mancheno, 2021) han demostrado la actividad antifúngica de aceites esencialeses de plantas contra *Candida albicans* y otros patógenos fúngicos, destacando su capacidad para inhibir el crecimiento de estos microorganismos.

Es importante destacar que la actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de *Bixa orellana* L. encontrada en este estudio es un paso inicial y que se necesitan investigaciones adicionales para validar su eficacia en modelos in vivo y su seguridad en aplicaciones clínicas. Trabajos como el de (Jesser, 2020) han resaltado la importancia de realizar estudios preclínicos para evaluar la toxicidad y la eficacia de aceites esencialeses de plantas antes de su aplicación en seres humanos.

Otro aspecto relevante para considerar es la posible sinergia entre los componentes del aceite esencial de *Bixa orellana* L. y otros agentes antifúngicos convencionales. Estudios como el de (Sempere-Ferre et al., 2021) han demostrado que la combinación de aceites esencialeses con antifúngicos puede potenciar su actividad y reducir la probabilidad de desarrollo de resistencia por parte de los microorganismos.

La presente investigación presenta resultados del estudio del aceite esencial de *Bixa orellana* obtenido por destilación por arrastre de vapor, con un rendimiento de 0,04 kg, lo que indica que se encuentra en un nivel bajo según el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) (Molares et al., 2009).

Estudios previos realizados a muestras de aceites esenciales de *B. orellana* L. han reportado la presencia del hidrocarburo sesquiterpénico ishwarano como uno de los compuestos mayoritarios en el aceite esencial de hojas de Lawrence and Hogg (1973) lo identificaron como el componente principal con un 54%, mientras que Zollo et al. (1998) y Raga *et al.* (2011) también lo identificaron con 43,5% y como trazas, respectivamente. Sin embargo, en el análisis del aceite esencial de hojas de la misma especie realizado en este estudio, el ishwarano no fue detectado, ni siquiera como traza. En su lugar, se encontró una alta proporción de otros hidrocarburos sesquiterpénicos como el β-Cariofileno (10,31%), el Trans-β-Bergamoteno (5,73%) y el α-Santaleno (4,94%), los cuales resultaron ser algunos de los componentes mayoritarios. Esta diferencia en la composición de hidrocarburos sesquiterpénicos podría atribuirse a diversos factores como las condiciones ambientales, geográficas y de cultivo en las que se desarrollaron las plantas, así como posibles variaciones en la época de recolección del material vegetal analizado. Está registrado en la literatura que la composición química de los aceites esencialeses puede variar significativamente dependiendo de estos factores extrínsecos (Coulibaly *et al.*, 2020). No obstante, los resultados coinciden con el reporte de Giorgi *et al.* (2013), quienes tampoco detectaron ishwarano, pero sí identificaron β-Cariofileno, γ-Elemeno, α-Cariofileno, α Copaeno y D-Germacreno como hidrocarburos sesquiterpénicos principales en muestras de *B. orellana* L. de Brasil, utilizando la técnica de microextracción en fase sólida. Aunque, el ishwarano ha sido reportado como componente mayoritario en algunos estudios previos, no fue detectado en el aceite esencial investigado en este estudio. Sin embargo, se encontró una predominancia de otros hidrocarburos sesquiterpénicos como β-Cariofileno, Trans-β-Bergamoteno y α-Santaleno, lo cual concuerda con hallazgos recientes y podría deberse a factores intrínsecos y extrínsecos que influyen en la composición química de esta especie (Figueiredo *et al.*, 2008).

La composición química del aceite esencial de la especie *B. orellana* L. obtenida en este estudio, con una abundan-

cia significativa de hidrocarburos sesquiterpénicos como β-Cariofileno (10,31%), Trans-β-Bergamoteno (5,73%) y α-Santaleno (4,94%), podría estar relacionada con la actividad antifúngica reportada previamente (Legault and Pichette, 2007; Chang *et al.*, 2008; Dahham *et al.*, 2015). Diversos estudios han demostrado que los sesquiterpenos presentes en aceites esencialeses exhiben propiedades antimicrobianas, incluida la actividad antifúngica (Rhimi *et al.*, 2022; Wu *et al.*, 2022). El β-Cariofileno, uno de los componentes mayoritarios identificados, ha sido ampliamente investigado por sus efectos antifúngicos contra diversos hongos patógenos. Además, compuestos como el Trans-β-Bergamoteno y el α-Santaleno también han mostrado actividad antifúngica en otras investigaciones (Legault and Pichette, 2007). Por lo tanto, es posible que la presencia abundante de estos hidrocarburos sesquiterpénicos contribuya a la capacidad antifúngica del aceite esencial de *B. orellana* L., aunque se requieren estudios adicionales para establecer correlaciones directas.

Ramírez, (2018) menciona que *Bixa orellana (*achiote) posee un efecto inhibidor in vitro en concentraciones de 75% y 100% del material vegetal, el cual afirma que existe un alto efecto antifúngico observado a las 24 y 48 horas. No obstante, el resultado obtenido en la investigación se determinó mediante el método de Kinby-Bauer que no se evidenció halo de inhibición en ninguna de las concentraciones evaluadas. Frente a la falta de inhibición frente a *Candida albicans* en los extractos de las hojas de la planta, se investigó el aceite esencial de la especie, el cual demostró efectos inhibitorios significativos sobre el hongo.

En contraste, Espíndola (2015) afirma que en el extracto etanólico de las hojas de *B. orellana* aplicando concentraciones de 50% y 75% fue sensible al hongo, sin embargo, al 100% existe una reacción positiva comparando con el Fluconazol que se empleó como control positivo. Sin embargo, los resultados obtenidos por este método no confirmaron un efecto positivo contra la cepa empleada, lo que pudo estar relacionado con el método utilizado para concentrar los extractos, que el aceite esencial se volatizara y así no se corroboró dicho efecto en esta investigación.

La evaluación comparativa del efecto antifúngico entre la Nistatina y el aceite esencial de *B. orellana* frente a *Candida albicans* revela resultados significativos. La Nistatina ha demostrado una sólida actividad antifúngica en estudios como el de Sousa et al. (2023) mientras que el aceite esencial extraído del material vegetal ha exhibido prometedoras propiedades antifúngicas en investigaciones como la de Rather et al. (2016) Estos hallazgos sugieren posibles alternativas terapéuticas para el desarrollo de tratamientos a ciertas infecciones fúngicas; sin embargo; se requiere una mayor investigación para establecer su eficacia relativa y su viabilidad clínica.

Además, se demostró que existe efecto inhibitorio del aceite esencial de la *B. orellana* frente a *Candida albicans* ATCC 10231 a partir del aceite esencial puro. Por lo tanto, esto demostró la importancia de la utilización de aceites esencialeses para el tratamiento de ciertas infecciones fúngicas en el cuerpo humano, aunque existen limitaciones que conllevan a seguir estudiando la especie vegetal a profundidad para obtener la validación clínica y aprobación de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Es importante destacar que los contenidos de humedad de las plantas se encuentran influenciado por diversos factores abióticos, como la temperatura, precipitación, tipo de suelo y la ubicación geográfica (Molares et al., 2009).

Hallazgos aportan información valiosa sobre la composición química de esta especie vegetal, sentando las bases para futuras investigaciones enfocadas en aislar, caracterizar y evaluar las propiedades biológicas y sensoriales de los compuestos identificados, así como explorar sus potenciales aplicaciones en diversos campos, como la industria de aromas y fragancias, o el desarrollo de agentes antimicrobianos naturales (Figueiredo *et al.*, 2008).

4. Conclusiones

El tamizaje fitoquímico reveló la presencia de una variedad de compuestos en el aceite esencial de *Bixa orellana*, incluyendo flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, carbohidratos, quinonas y aminoácidos. Los que pudieran estar relacionados con la actividad biológica.

La técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) identificó al β-Cariofileno como el componente principal en el aceite esencial, destacando su relevancia en la composición química de la planta. Con una concentración del 10,31%, su presencia puede influir significativamente en las propiedades y potencialidades biológicas del aceite.

La efectividad del aceite esencial de *Bixa orellana* en la inhibición de *Candida albicans* sugiere su prometedor potencial como agente antifúngico. Estos resultados respaldan la importancia de explorar más a fondo las propiedades antimicrobianas de este aceite esencial, abriendo puertas a su posible aplicación en el desarrollo de nuevos tratamientos antimicóticos.

Contribuciones de los autores

María Coraima Mora García: Adquisición y análisis de los datos; redactó el manuscrito, aprobó la versión enviada y la versión sustancialmente editada

María Belén Cruz Berrú: Adquisición y análisis de los datos; redactó el manuscrito, aprobó la versión enviada y la versión sustancialmente editada

Sandra Luisa Soria Re: Concepción del trabajo; aprobó la versión enviada y la versión sustancialmente editada

Todos los autores aporbaron la version enviada y editada.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

5. Referencias

Association of Official Analytical Chemists (2010) OFFICIAL METHODS of ANALYSIS. Available at: https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.2010.pdf (Accessed: 2 March 2024).

Chang, H. et al. (2008) 'Antifungal activity of essential oil and its constituents from Calocedrus macrolepis var. formosana Florin leaf against plant pathogenic fungi', Bioresource technology, 99, pp. 6266–6270. doi: 10.1016/j.biortech.2007.12.005.

Colina, A. (2016) Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de "Muehlenbeckia hastulata (J.E.Sm) I.M. Johnst" de la zona de Yucay (Cusco). Available at: blob:https://web.whatsapp.com/f7ead8c9-aa85-4ff4-bf0a-3c71f06e41a0 (Accessed: 2 March 2024).

Coulibaly, A. et al. (2020) 'Chemical variability of essential oils from the leaves of Tridax procumbens Linn (Asteraceae) from five cities of Côte d ' Ivoire', Revista Internacional de Ciencias Biológicas y Químicas, 14(June), pp. 1843–1852.

Dahham, S. S. et al. (2015) 'The Anticancer, Antioxidant and Antimicrobial Properties of the Sesquiterpene β-Caryophyllene from the Essential Oil of Aquilaria crassna', Molecules, 20, pp. 11808–11829. doi: 10.3390/molecules200711808.

Ducel, G. et al. (2002) Prevención de las infecciones nosocomiales, Guía práctica Second ed: Organización Mundial de la Salud.

Espíndola, R. (2015) UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO FACULTAD DE MEDICINA HUMANA ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA .EFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO MÉDICO CIRUJANO AUTORA: Rosnira Amrosia ESPÍNDOLA MILLA. Available at: https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12759/1736/RE_MED.HUMANA_BIXA.ORELLANA.L_FLUCONAZOL_CALDIDA.ALBICANS_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Accessed: 18 December 2023).

Figueiredo, A. C. et al. (2008) 'Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils', Flavour and Fragrance journal, 23(May), pp. 213–226. doi: 10.1002/ffj.

Gray, C. and Bilsborrow, R. (2020) 'Stability and change within indigenous land use in the Ecuadorian Amazon', Global Environmental Change, 63. Available at: https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2020.102116.

Giorgi, A. et al. (2013) 'Secondary Metabolite Profile , Antioxidant Capacity , and Mosquito Repellent Activity of Bixa orellana from Brazilian Amazon Region', Revista de Química, 2013. doi: 10.1155/2013/409826.

Hernández, M. and Arambarri, A. (2019) 'Anatomy and qualitative analysis of saponins, resins, and oils in organs of Pascalia glauca (Asteraceae)', Sociedad Argentina Botánica [Preprint]. Available at: https://doi.org/http://dx.doi. org/10.31055/1851.2372.v54. n3.25356.

Hossain, C.M. et al. (2022) 'Antifungals and Drug Resistance', Encyclopedia, 2(4), pp. 1722–1737. Available at: https://doi.org/10.3390/encyclopedia2040118.

Jesser, E. (2020). Nanobioinsecticidas: nuevas estrategias de manejo integrado de Plodia interpunctella (Lepidoptera, Pyralidae). Desarrollo, aplicaciones y estudios ecotoxicológicos.

Lawrence, B. M. and Hogg, J. W. (1973) 'Ishwarane in bixa orellana leaf oil', Phytochemistry, 12(1969), p. 2995.

León, M. D., & Mancheno, M. X. (2021). ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE COMPUESTOS FRENTE A F usarium graminearum ANTIFUNGAL ACTIVITY OF TARA (C aesalpinia spinosa) PHENOLIC COMPOUNDS AGAINST F usarium graminearum. Revista de Investigación Agraria y Ambiental, 12(1), 39–50. https://doi.org/doi.org/10.22490/21456453.3755

Lucia, A. et al. (2017) 'Novel polymeric micelles for insect pest control: Encapsulation of essential oil monoterpenes inside a triblock copolymer shell for head lice control', PeerJ, 2017(4). Available at: https://doi.org/10.7717/peerj.3171.

Lucia, A. and Guzmán, E. (2021) 'Emulsions containing essential oils, their components or volatile semiochemicals as promising tools for insect pest and pathogen management', Advances in Colloid and Interface Science. Elsevier B.V. Available at: https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102330.

Manual BioCen de Medios de Cultivo (2018) MANUAL DE MEDIOS DE CULTIVO. Available at: www.biocen.cu.

Martínez, H.S. (2010) "Estudio in vitro de la actividad antibacteriana y antifúngica de extractos vegetales del género Baccharis (CARRERA DE CIENCIAS QUIMICAS) sobre Microorganismos fitopatógenos y patógenos humanos (INSTITUTO DE INVESTIGACIONES FARMACO-BIOQUIMICAS), en el año 2010. Tesis Doctoral.

McMeekin, T. et al. (1997) 'Quantitative Microbiology: A Basis for Food Safety', 3(Special), pp. 541–549.

Molares, S. et al. (2009) Etnobotánica, anatomía y caracterización físicoquímica del aceite esencial de Baccharis obovata Hook. et Arn. (Asteraceae: Astereae).

Mutlu-Ingok, A. et al. (2020) 'Antibacterial, antifungal, antimycotoxigenic, and antioxidant activities of essential oils: an updated review', Molecules. MDPI AG. Available at: https://doi.org/10.3390/molecules25204711.

Nogales, A. (2021) PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL CUADOR FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS. Available at: http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/19025/Trabajo%20de%20titulaci%C3%B3n%20Final%20-%20Ang%C3%A9lica%20Nogales.pdf?sequence=1&isAllowed=y (Accessed: 18 December 2023).

Paz y Miño, C. and Leone, P.E. (2022) 'Use, knowledge, attitudes and practices of formal and alternative medicine related to Covid-19 in the Ecuadorian population', Bionatura, 7(3). Available at: https://doi.org/10.21931/RB/2022.07.03.56.

Prujol, A. et al. (2020) 'Phytochemical screening of extracts obtained from the Sapindus saponaria L plant that grows in Cuba', Bionatura [Preprint]. Available at: https://doi.org/10.21931/RB/2020.05.03.7.

Raga, D. et al. (2011) 'A bioactive sesquiterpene from Bixa orellana', Journal of natural medicines, 65(January), pp. 206–211. doi: 10.1007/s11418-010-0459-9.

Ramírez, B. (2018) UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR FACULTAD DE ODONTOLOGÍA. Available at: https://docplayer.es/76190244-Universidad-central-del-ecuador-facultad-de-odontologia-carrera-de-odontologia.html (Accessed: 18 December 2023).

Rather, L. J., Mohammad, F., & Ul-Islam, S. (2016). Phytochemistry , biological activities and potential of annatto in natural colorant production for industrial applications – A review. Journal of Advanced Research, 7(3), 499–514. https://doi.org/10.1016/j.jare.2015.11.002

Rhimi, W. et al. (2022) 'Antifungal , Antioxidant and Antibiofilm Activities of Essential Oils of Cymbopogon spp.', antibiotics, 11, pp. 1–13. Available at: https://www.mdpi.com/2079-6382/11/6/829.

Sempere-Ferre, F. et al. (2021) 'Evaluating the antifungal potential of botanical compounds to control botryotinia fuckeliana and rhizoctonia solani', Molecules. MDPI AG. Available at: https://doi.org/10.3390/molecules26092472.

Sousa, F., Nascimento, C., Ferreira, D., Reis, S., & Costa, P. (2023). Reviving the interest in the versatile drug nystatin: A multitude of strategies to increase its potential as an effective and safe antifungal agent. Advanced Drug Delivery Reviews, 199, 114969. https://doi.org/10.1016/j.addr.2023.114969

SYNLLAB. (2023). ¿Dolor de cabeza y náuseas constantes? Descubre si sufres de candidiasis intestinal. Blog Synlab. https://www.synlab.pe/dolor-de-cabeza-y-nauseas-constantes-descubre-si-sufres-de-candidiasis-intestinal/

Valdez, M. and Cisneros, P. (2020) 'Gobernanza ambiental, Buen Vivir y la evolución de la deforestación en Ecuador en las provincias de Tungurahua y Pastaza', FORO. Revista de Derecho, pp. 146–167. Available at: https://doi.org/10.32719/26312484.2020.34.8.

Villaverde, I. (2018) OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES POR DESTILACIÓN EN CORRIENTE DE VAPOR. Available at: https://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf (Accessed: 2 March 2024).

Wu, C. et al. (2022) 'Antifungal Sesquiterpenoids from Michelia formosana Leaf Essential Oil against Wood-Rotting Fungi', Molecules, 27, pp. 1–8. doi: 10.3390/ molecules27072136.

Zolin, G. et al. (2021) 'Histatin 5 Metallopeptides and Their Potential

against Candida albicans Pathogenicity and Drug Resistance', biomolecules, p. 17. doi: doi.org/ 10.3390/biom11081209.

Zollo, P. H. A. et al. (1998) 'Aromatic Plants of Tropical Central Africa . Part XXXII. Chemical Composition and Antifungal Activity of Thirteen Essential Oils from Aromatic Plants of Cameroon', Flavour and fragrance journal, 13(January 1995), pp. 107–114.