

**Evaluación de la actividad antimicrobiana de una biopelícula funcionalizada con aceite esencial de citronela y venenos de serpiente como una alternativa de control de patógenos en la industria agroalimentaria**

Diego Segundo Deossa Vasquez

Asesor

Leidy Johanna Gómez Sampedro

Universidad Nacional Abierta y a Distancia

Escuela de Ciencias Básicas, Tecnología e Ingeniería

Programa de Ingeniería de Alimentos

2025

## **Agradecimientos**

Quiero para comenzar, expresar mi agradecimiento a la universidad UNAD por la educación otorgada con todo su equipo de profesores, quienes aportaron demasiado a mi vida profesional. También agradecer a la universidad por un entorno educativo tan especial y agradecer por darme la oportunidad de tener acceso a los espacios de laboratorio, los cuales facilitaron mi proceso de investigación. Mi más profundo agradecimiento a la directora de tesis la Ingeniera Leidy Johanna Gómez por su experiencia, su comprensión y paciencia, las cuales contribuyeron a mi experiencia en el complejo, gracias por su guía constante y su fe inquebrantable en mis habilidades y mi gratificante camino en esta investigación, con quien está mi gratitud.

Agradecimiento a mis padres por su amor y apoyo moral, a mi hermana Sandra Milena Deossa Vasquez que supo estar también en los momentos más complejos cuando más la necesitaba.

Así como también agradezco a la universidad de Antioquia por brindarme la oportunidad de usar de sus laboratorios al mismo que sus colaboradores, quienes me apoyaron y han hecho posible el proceso investigativo.

Finalmente agradezco a todos mis colegas que participaron esta investigación, su ayuda en la recopilación de datos, revisión de mi trabajo y valiosos comentarios, enriquecieron este proyecto de una forma muy gratificante.

Gracias a todos por hacer parte de este viaje constructivo.

## Resumen

La contaminación por bacterias fitopatógenas ha sido un problema persistente tanto en Colombia como a nivel mundial, afectando la producción de alimentos y, por ende, la competitividad, la seguridad y la soberanía alimentaria. En este proceso investigativo, se comparó la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de citronela (AEC) y venenos de serpientes, diluidos en una solución filmogénica. El AEC se extrajo mediante destilación por arrastre de vapor de agua y se evaluó su actividad antimicrobiana frente a *Pectobacterium sp.* y *Xanthomonas campestris* utilizando la prueba de microdilución en caldo. Se evaluó también la actividad antimicrobiana del veneno de tres especies de serpientes (*Micrurus mipartitus*, *Micrurus dumerilii* y *Bothrops asper*), y el efecto sinérgico entre el AEC y cada uno de los venenos. Todas las muestras fueron analizadas con y sin la solución filmogénica, a distintas concentraciones. Los resultados mostraron que el AEC tiene una alta actividad inhibidora frente a ambas bacterias, con un mayor efecto contra *X. campestris*, obteniendo un  $IC_{50}$  promedio de 1.08 mg/mL. Al combinar el AEC con los venenos de serpiente, la actividad antibacteriana se potenció alcanzando una inhibición cercana al 100% frente a ambas bacterias. Estos hallazgos sugieren que el AEC podría ser una alternativa prometedora para el desarrollo de tratamientos antibacterianos en cultivos.

**Palabras clave:** Antimicótico, bioproductos, antibacteriano, aceite esencial, fitopatógeno, péptidos bioactivos.

## Abstract

Contamination by phytopathogenic bacteria has been a persistent problem in Colombia and worldwide, affecting food production and, consequently, competitiveness as well as food security and sovereignty. In this research, we compared the antimicrobial capacity of citronella essential oil (AEC) and snake venoms, each diluted in a film-forming solution that could later be used as a biopolymeric film for application to crops and fruits. The AEC was obtained by steam distillation, and its antimicrobial activity against *Pectobacterium* sp. and *Xanthomonas campestris* was evaluated using the broth microdilution assay. We also assessed the antimicrobial activity of venom from three snake species (*Micrurus mipartitus*, *Micrurus dumerilii*, and *Bothrops asper*), as well as the synergistic effect between CEO and each venom. All samples were analyzed with and without the film-forming solution at various concentrations. The results showed that the AEC exhibits strong inhibitory activity against both bacteria, with a greater effect on *X. campestris*, yielding a mean  $IC_{50}$  of 1.08 mg/mL. When the AEC was combined with snake venoms, antibacterial activity was enhanced, achieving nearly 100% inhibition against both bacteria. These findings suggest that the AEC may be a promising alternative for developing antibacterial treatments in crops.

**Keywords:** antifungal, bioproducts, antibacterial, essential oil, phytopathogen, bioactive peptides.

## Tabla de Contenido

Planteamiento del Problema .....	11
Justificación .....	12
Objetivos.....	14
Objetivo General .....	14
Objetivos Específicos.....	14
Marco Teórico.....	15
Patógenos de Importancia en la Contaminación Agroalimentaria .....	15
Xanthomonas .....	15
Pectobacterium.....	16
Sustancias Controladoras Fitopatógenas Usadas en el Proceso de Investigación.....	17
Sustancias Tradicionales de Control Fitopatógeno.....	17
Aceite Esencial de Citronela.....	19
Veneno de Serpientes como Fuente de Compuestos Antimicrobianos .....	20
Biopelícula como Medio de Aplicación de Compuestos Antimicrobianos .....	23
Metodología .....	25
Obtención de Materias Primas; Aceite Esencial de Citronela y Venenos. ....	25
Extracción del Aceite Esencial de Citronela.....	25
Preparación de la Solución Filmogénica.....	26
Prueba de Inhibición por el Método Microdilución en Caldo.....	27
Análisis Estadístico .....	28
Resultados y discusión .....	29
Extracción del Aceite Esencial de Citronela.....	29

Proceso de Destilación:.....	29
Evaluación de la Actividad Antibacteriana de una Biopelícula Funcionalizada con Aceite Esencial de Citronela y Veneno Completo de Diferentes Serpientes .....	34
Efecto Sinérgico Entre el AEC y los Venenos Completos .....	39
Conclusiones .....	42
Referencias Bibliográficas .....	44

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b>	<i>Fotografía de la Planta de Citronela</i> .....	19
<b>Figura 2</b>	<i>Gráfico de Cajas y Bigotes Análisis Estadístico Tratamiento Extracción AEC</i> .....	33
<b>Figura 3</b>	<i>Actividad Antibacteriana del AEC Diluido en la Solución Filmogénica (PE) y Diluido en DMSO (E)</i> .....	35
<b>Figura 4</b>	<i>Actividad Antibacteriana de Veneno Completo de Micrurus Mipartitus (MM), Micrurus Dumerilii (MD) y Bothrops Asper (BA), Diluidos en la Solución Filmogénica (VP) y Diluidos en Agua (VA), Frente a Xanthomonas Campestris</i> .....	37
<b>Figura 5</b>	<i>Actividad Antibacteriana de Veneno Completo de Micrurus Mipartitus (MM), Micrurus Dumerilii (MD) y Bothrops Asper (BA), Diluidos en la Solución Filmogénica (VP) y Diluidos en Agua (VA), Frente a Pectobacterium sp</i> .....	39
<b>Figura 6</b>	<i>Actividad Antibacteriana del AEC Diluido en la Solución Filmogénica (PE) y Venenos Completos de Micrurus Mipartitus (MM) y Micrurus Dumerilii (MD) y Bothrops Asper (BA)</i> .....	40

### Lista de Tablas

<b>Tabla 1</b> <i>Rendimiento de Extracción de AEC en Muestra Pre Secada.</i> .....	30
<b>Tabla 2</b> <i>Rendimientos de Extracción de AEC en Muestras Frescas (Acabados de Cosechar) ...</i>	31
<b>Tabla 3</b> <i>IC50 de la biopelícula funcionalizada con aceite esencial de citronela y del aceite esencial diluido en DMSO</i> .....	36

## Introducción

Tanto en Colombia como en el mundo, la contaminación por bacterias (fitopatógenos) ha sido un problema que ha causado pérdidas en la producción de alimentos a nivel nacional y mundial, influyendo no solo en la competitividad sino en la estabilidad alimentaria. Las infecciones asociadas a fitopatógenos son responsables del 20 al 40% del total de pérdidas en producción ocasionadas por enfermedades en plantas, las cuales generan pérdidas económicas cercanas a los 40 billones de dólares al año a nivel mundial (Savary et al., 2012). Este tipo de contaminación se da naturalmente en los cultivos, principalmente cuando se tienen cambios de temperatura extremos o aumento de humedad por invierno, o por malas prácticas en el cuidado de los cultivos. Respecto a las prácticas de manipulación incorrectas, aceleran el deterioro de los productos frescos, por ejemplo; malas prácticas de recolección, contaminación cruzada, la forma de almacenar erróneas y un manejo postcosecha deficiente aumentan las afectaciones de enfermedades en productos frescos y esto baja la vida útil de producto. El uso de compuestos de base biológica como extractos de plantas puede ser una alternativa a los antimicrobianos utilizados actualmente para controlar los hongos y bacterias fitopatógenas, ya que constituyen una fuente rica de compuestos bioactivos como *fenoles*, *flavonoides*, *quinonas*, *taninos*, *alcaloides*, *saponinas*, entre otros (Trujillo et al., 2021). Particularmente la citronela ha sido estudiada en la última década, por sus propiedades antifúngicas y antibacterianas, destacando su eficacia contra una variedad de patógenos como *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Magnaporthe oryzae* (Mao & Fm, 2019; Zhou et al., 2022). Por otro lado, los venenos de serpientes han demostrado un potencial para el hallazgo de componentes antimicrobianos, recientemente se describió la actividad antibacteriana del veneno de víboras

colombianas sobre fitopatógenos como *Xanthomonas* del cultivo de frutas de exportación (Núñez-Rangel et al., 2023).

Por lo anterior, el presente trabajo buscó evaluar la actividad antibacteriana del AEC y el veneno de tres especies de serpientes (*Micrurus mipartitus*, *Micrurus dumerilii* y *Bothrops asper*) frente a dos bacterias de interés fitopatógeno, *Pectobacterium sp.* y *Xanthomonas campestris*. que fueron incorporadas en solución polimérica y evaluada su actividad frente a esas mismas bacterias.

## Planteamiento del Problema

De acuerdo con cifras de la FAO (FAO, 2012), anualmente en el mundo se desaprovechan alrededor de 1.300 billones de toneladas de comida, la gran mayoría de ella relacionados generalmente a pérdidas en la atapa de pre y postcosecha. En Colombia, las frutas y verduras son las que tienen la mayor participación en esas pérdidas y desperdicios con el 44 %, seguido por raíces y tubérculos (20 %) y cereales (19 %) (Ruiz Muñoz, 2020). Estado general de las pérdidas y desperdicios de alimentos: retos para la gastronomía colombiana.). Gran parte de estas pérdidas son causados por hongos y bacterias fitopatógenos, los cuales son recurrentes y difíciles de controlar, debido a su rápida propagación y problemas en el manejo (Savary et al., 2012).

Estos problemas de contaminación afectan la agroindustria en los diferentes eslabones de la cadena, desde el cultivo hasta la etapa postcosecha. En este sentido, durante décadas los agricultores han dado soluciones mediante agroquímicos para mantener saludables sus cultivos y mantener altas tasas de producción, sin embargo, estos han demostrado tener un impacto negativo en la salud del consumidor y el ecosistema; por lo cual, es importante identificar alternativas amigables con el ambiente, para reemplazar estos agroquímicos (Hidalgo Dávila, 2017). Por otro lado, la producción de alimentos a gran escala y la necesidad de extender su vida útil, es una preocupación actual, y motivo para desarrollar nuevas alternativas que permitan almacenar y transportar alimentos conservando sus propiedades nutricionales y sensoriales para los mercados nacionales e internacionales. En este sentido, en la presente propuesta se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es la actividad antimicrobiana del aceite esencial de citronela y los venenos de *Micrurus* y *Bothrop* y su sinergismo frente a bacterias fitopatógenas de interés en la industria agroalimentaria al ser incorporados en una solución polimérica?

## Justificación

Las pérdidas de alimentos se dan entre otras causas por la contaminación con fitopatógenos que lleva al deterioro de las plantaciones y alimentos. En la etapa de cultivo, generalmente el manejo de fitopatógenos se hace mediante el uso de agroquímicos con efectos biocidas, pero ya se han descrito cepas resistentes a éstos, contribuyendo a la selección de organismos que conducen a enfermedades con mayor incidencia que antes. Además, estos representan un riesgo para la salud humana y contribuyen a la contaminación ambiental y pérdida de la biodiversidad (Rodríguez et al., 2017). Por ello, se requieren estrategias para alargar la vida útil de alimentos como frutas y hortalizas, identificando nuevas moléculas o estrategias que puedan ser empleadas en el control de estos patógenos y que permitan reducir las pérdidas económicas que estos microorganismos están generando en la industria agroalimentaria (Bubici et al., 2019).

Colombia, por su extraordinaria biodiversidad, está llamada a fortalecer sus modelos de bioeconomía. Ya el 2011 el Consejo Nacional de Política Económica y Social (CONPES, 2011) en su “Política para el desarrollo comercial de la biotecnología a partir del uso sostenible de la biodiversidad” señaló que, además de proveer materias primas derivadas de la biodiversidad, el país debía robustecer y desarrollar cadenas de valor para generar productos aprovechables en industrias vinculadas a la bioprospección, tales como la industria agroalimentaria, farmacéutica, botánica medicinal, cosmética y protección de cultivos, entre otras. En este CONPES se reconoce a la biotecnología y al uso sostenible de la biodiversidad como una oportunidad única para mejorar la competitividad y contribuir al desarrollo socioeconómico. Esta visión se reafirma en la Política Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2022–2031 (CONPES 4069), donde la Misión Internacional de Sabios incluye la biotecnología, la bioeconomía y el medio ambiente

entre las ocho áreas estratégicas para orientar a Colombia hacia una sociedad del conocimiento y transformar su modelo de desarrollo mediante la CTI (CONPES, 2021).

En este sentido, la propuesta de investigación se articula a las políticas nacionales y las necesidades del sector agroalimentario, toda vez que busca nuevos biocompuestos con actividad antimicrobiana, que permitan en el mediano y largo plazo reemplazar los agroquímicos tradicionales, además de reducir pérdidas agroalimentarias, mejorando márgenes para los productores, aportando a una mayor sostenibilidad de las cadenas productivas y aportar de manera tangible a la bioeconomía.

## Objetivos

### Objetivo General

Evaluar la actividad antimicrobiana de una biopelícula funcionalizada con aceite esencial de citronela y venenos de *Micrurus mipartitus*, *Micrurus dumerilii* y *Bothrops asper* como una alternativa de control de patógenos de interés en la industria agroalimentaria

### Objetivos Específicos

Evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de citronela AEC y veneno de *Micrurus mipartitus*, *Micrurus dumerilii* y *Bothrops asper*, diluidos o no en una solución filmogénica, sobre los microorganismos *Pectobacterium sp.* y *Xanthomonas campestris*.

Evaluar el efecto sinérgico entre el aceite esencial de citronela y los venenos de *Micrurus mipartitus*, *Micrurus dumerilii* además de *Bothrops asper* en cuanto a su potencial antimicrobiano.

Identificar el IC<sub>50</sub> de la biopelícula funcionalizada con el aceite esencial de citronela y los venenos de serpiente, sobre los microorganismos evaluados.

## Marco Teórico

### Patógenos de Importancia en la Contaminación Agroalimentaria

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO por sus siglas en inglés, se estima que alrededor del 30% de cereales y entre el 40-50% de frutas y vegetales hacen parte de la pérdida en la cadena de producción y consumo; residuos que son asociados principalmente al comportamiento de los consumidores en países con ingresos medio-altos; pero en el caso de países de bajos ingresos, la mayoría de esta pérdida se atribuye a la contaminación microbiana, por deficiencia en los procesos de conservación y técnicas de cultivo (They et al. 2020).

Existen diversos patógenos que afectan tanto los cultivos como sus frutos. Entre ellos se encuentran las especies *Xanthomonas* y *Pectobacterium*.

#### *Xanthomonas*

El género *Xanthomonas* comprende un grupo de bacterias fitopatógenas Gram negativas dentro de la clase III Gammaproteobacteria (Saddler y Bradbury, 2005). Sus especies son típicamente de forma de bacilo con un solo flagelo polar, son aerobios obligados y requieren una temperatura óptima para su crecimiento de 28 °C (Torres et al., 2009). Las *Xanthomonas* son bacterias que causan graves enfermedades en plantas de utilidad agrícola y comercial. Destaca su presencia en cultivos de elevado interés como arroz, algodón, frijol, entre otras especies hortícolas como tomate o pimiento y plantas leñosas como la yuca, los cítricos o los frutales de hueso (Francisco Francisco, 2013).

Estos patógenos causan muchos tipos de síntomas de enfermedad, incluyendo manchas, tizones, canchales y marchiteces vasculares. El tipo de función fisiológica que se ve afectada primero depende de las células y tejidos de la planta hospedante que se infectan. Por lo tanto, la

infección de los vasos de la xilema interfiere con la translocación de agua que conduce a marchiteces vasculares y canchales, mientras que la infección del follaje interfiere con el proceso fotosintético presentándose manchas foliares, tizones y pústulas (Alvarez Martinez et al., 2021).

Para el control de *Xanthomonas campestris*, se utilizan principalmente compuestos a base de cobre como el hidróxido de cobre y antibióticos como mancozeb o dithane M-45, aunque también se pueden emplear métodos de control cultural como rotación de cultivos, uso de semillas libres de *Xanthomonas*, suelos bien drenados y tratamiento físico de las semillas, usando sustancias antimicrobianas como cefalexina o kasugamicina, Además, se investigan nuevos métodos de control y se evalúa la resistencia bacteriana a los tratamientos (Maeso et al., 2016)

### ***Pectobacterium***

El género *Pectobacterium* es un grupo relevante de bacterias fitopatógenas, reconocido por su papel como fitopatógeno de importancia agroalimentaria, especialmente por causar enfermedades de podredumbre blanda en diversos cultivos de valor. Los miembros de este género, antes clasificados dentro de *Erwinia*, degradan los tejidos vegetales mediante la producción de enzimas pectinolíticas que descomponen la pectina y otros componentes de la pared celular, lo que conduce a la maceración y descomposición de los tejidos (Kunstmann, et al., 2006). Esta patogenicidad provoca pérdidas económicas en la agricultura, en particular durante el cultivo y almacenamiento de productos como papa, tomate y distintas plantas ornamentales (Jonkheer et al., 2021; Radke et al., 2024).

Un aspecto crucial de la patogenicidad de especies de *Pectobacterium*, incluidas *P. carotovorum* y *P. brasiliense*, radica en sus factores de virulencia y en su configuración genética. Estudios genómicos recientes han revelado variaciones en genes asociados con estilos de vida patógenos, lo que destaca su capacidad de adaptación y de evasión de las defensas de las

plantas hospedero (Kistner et al., 2013; (Aizawa, S. I. 2014). La infección está facilitada por sofisticados sistemas de secreción que entregan factores de virulencia directamente a las células del hospedero para iniciar el proceso infeccioso (Charkowski et al., 2012). Estas adaptaciones permiten que *Pectobacterium* prospere en condiciones ambientales y hospedadores diversos, un rasgo clave en su impacto sobre la agricultura y el deterioro de alimentos (Oulghazi et al., 2021).

Además, el manejo eficaz de las enfermedades causadas por *Pectobacterium* es vital para garantizar la seguridad alimentaria y minimizar las pérdidas económicas. Las estrategias actuales incluyen medidas de control biológico, métodos de detección temprana y la adopción de mejores prácticas agrícolas para limitar la propagación de la infección (Aizawa, S. I. 2014; Ahmed et al., 2018). Tanto las prácticas en campo como el manejo postcosecha cumplen un papel esencial en mitigar el impacto de estos fitopatógenos, lo que subraya la importancia de enfoques integrados de manejo sanitario vegetal centrados en la prevención y el control (Ábrahám et al., 2024; Pardeshi et al., 2024).

### **Sustancias Controladoras Fitopatógenas Usadas en el Proceso de Investigación.**

#### ***Sustancias Tradicionales de Control Fitopatógeno***

El uso de productos químicos para controlar fitopatógenos en cultivos alimentarios ha sido una práctica de larga data en la agricultura. Estos químicos, incluidos fungicidas, insecticidas, herbicidas y nematocidas, se diseñan para atacar plagas y patógenos específicos, ayudando a garantizar la seguridad alimentaria y el rendimiento de los cultivos ante la creciente demanda mundial por el aumento poblacional (Ayaz et al., 2023). Sin embargo, la aplicación de estos agentes conlleva riesgos importantes que pueden afectar la salud humana, el ambiente y la sostenibilidad a largo plazo de los sistemas agrícolas.

Las estrategias químicas actuales dependen en gran medida de pesticidas sintéticos, que han demostrado mejorar la productividad al controlar de manera eficaz enfermedades causadas por organismos fitopatógenos. Por ejemplo, fungicidas como los *triazoles* y los *azoles* actúan de forma amplia sobre hongos patógenos, limitando la propagación de enfermedades como las provocadas por especies de *Fusarium* y *Botrytis* (Park et al., 2021).

Pese a su eficacia, la dependencia excesiva de estos compuestos ha generado preocupaciones ambientales sustanciales, entre ellas la acumulación de residuos químicos en suelos y aguas, que puede dañar organismos no objetivo y alterar los ecosistemas locales (Prudnikova, 2019). Además, el uso continuado de pesticidas sintéticos ha contribuido al desarrollo de resistencia en los fitopatógenos objetivo, lo que exige dosis más altas o nuevas formulaciones y plantea, a su vez, preocupaciones económicas para los agricultores (Patyka et al., 2016).

Otro problema crítico es el posible impacto de los residuos de plaguicidas en la salud humana. Muchos agentes químicos son tóxicos, y ciertas sustancias, incluidos algunos organofosforados y carbamatos, suponen riesgos significativos por sus efectos neurotóxicos (Khanal et al., 2023). La presencia de estos residuos en los alimentos puede acarrear consecuencias graves para los consumidores, lo que ha motivado una mayor vigilancia y medidas regulatorias orientadas a reducir los niveles máximos permitidos (Rooney et al., 2020).

Por otra parte, la dependencia del control químico ha impulsado una transición hacia prácticas agrícolas más sostenibles que integran estrategias de manejo integrado de plagas (MIP). Estos enfoques buscan combinar controles químicos con alternativas biológicas, como el uso de agentes de biocontrol y extractos vegetales, reduciendo así la carga química total sin perder eficacia en el manejo de las poblaciones de plagas (Ayaz et al., 2023).

### ***Aceite Esencial de Citronela***

Los extractos de plantas medicinales se perfilan como alternativas prometedoras a los agroquímicos sintéticos, y varios estudios han demostrado su eficacia frente a microorganismo fitopatógenos comunes. Entre estos extractos se destacan los aceites esenciales, en especial, el aceite esencial de citronela, obtenido de las hojas y tallos de ciertas especies mostrada en la figura 1, del género *Cymbopogon*, principalmente *Cymbopogon nardus*. Este aceite esencial está constituido principalmente de citronelol (hasta el 50%) y geraniol (hasta el 45%), además de canfeno, metil eugenol y borneol, que producen un aroma secundario (Clarke, S. 2008).

### **Figura 1**

*Fotografía de la Planta de Citronela*



Nota; *Planta cimpongongon*. 2150msnm. El santuario Antioquia. Fuente Autoría propia

Algunas investigaciones han evaluado la actividad antimicrobiana del AEC frente a patógenos que afectan frutas y hortalizas. Por ejemplo, se ha reportado que el aceite esencial de citronela inhibe eficazmente el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides*, principal causante de la antracnosis en aguacate, y de *Monilinia fructicola*, responsable de la pudrición parda en duraznos (Sellamuthu et al., 2013). Sánchez-García et.al. (2017), demostraron la efectividad del AEC frente a diferentes hongos y bacterias tales como *Penicillium sp.*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus sp.*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium sp.*, entre otros. De forma

similar, Stegmayer et.al. (2021) identificaron que los compuestos fitoquímicos en el AEC presentan actividad inhibitoria contra fitopatógenos como *Aspergillus flavus*, *A. glaucus* y otros.

Estas propiedades convierten a la citronela en una candidata prometedora para el desarrollo de fungicidas naturales como alternativas a los químicos sintéticos, contribuyendo a prácticas agrícolas sostenibles. La estabilidad y la aplicación concentrada del aceite de citronela mediante técnicas como la encapsulación y la nanoformulación incrementan su eficacia y viabilidad operativa en contextos agrícolas. Este avance es clave, ya que la volatilidad y la hidrofobicidad del aceite suelen limitar su uso práctico y su efecto residual (Chen et al., 2022).

### ***Veneno de Serpientes como Fuente de Compuestos Antimicrobianos***

Los venenos de serpiente son mezclas complejas de péptidos y proteínas bioactivos que a menudo actúan como agentes antimicrobianos frente a una amplia variedad de patógenos microbianos. Estos venenos, diseñados principalmente para inmovilizar y digerir a la presa, han evolucionado para exhibir un abanico de actividades farmacológicas que pueden aprovecharse con fines terapéuticos, en particular para combatir infecciones microbianas, incluidas aquellas que no responden eficazmente a los antibióticos convencionales (Alam et al., 2019; Barathan & Hanafiah, 2025).

Entre los componentes más relevantes del veneno se encuentran las L-aminoácido oxidasas (LAAO), las fosfolipasas A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>), las metaloproteinasas y diversos péptidos antimicrobianos (AMP). Las LAAO han llamado la atención por su capacidad de generar peróxido de hidrógeno, lo que puede contribuir a inhibir bacterias y la formación de biopelículas en patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* (Singkham-in et al., 2023). De manera similar, se ha informado que las PLA<sub>2</sub> presentan propiedades antibacterianas al desestabilizar las membranas celulares bacterianas, alterando su permeabilidad y provocando la lisis celular (Samy

et al., 2007). Este mecanismo ilustra una ventaja particular de los componentes del veneno al dirigirse a las membranas bacterianas, lo que resulta clave para combatir cepas resistentes a los antibióticos (Barathan & Hanafiah, 2025).

Estudios recientes han puesto de manifiesto la actividad antibacteriana prometedora de los venenos de serpiente frente a bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, incluidas cepas patógenas como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Samy et al., 2007). Ciertas lectinas tipo C derivadas de venenos han mostrado actividad antimicrobiana variable, lo que contribuye a los efectos de amplio espectro del veneno sobre el crecimiento microbiano (Rádis-Baptista et al., 2006). El potencial terapéutico de estas proteínas se sustenta en su capacidad para eludir los mecanismos típicos de resistencia bacteriana, ofreciendo una vía posible para nuevos agentes antimicrobianos en medio de la creciente crisis de multirresistencia (Alam et al., 2019; Barathan & Hanafiah, 2025).

**Veneno de *Micrurus Mipartitus* y *Micrurus Dumerilii*.** El veneno de *Micrurus*, el género de serpiente coral, ha sido investigado por su potencial antimicrobiano, aunque su toxicidad es principalmente neurotóxica tanto *Micrurus mipartitus* y *Micrurus dumerilii*. Estudios han demostrado que algunos componentes de veneno de estas serpientes pueden tener actividad contra microorganismos como bacterias y hongos y se pueden aislar los componentes tóxicos. La composición de veneno de serpiente es una mezcla compleja de proteínas y péptidos. Entre sus principales componentes son fosfolipasa A2(PLA2), Neurotoxinas tipo 3FTx (Toxica de tres péptidos antimicrobianos AMPS. (Rivas-Santiago et al., 2006). Especialmente las fosfolipasas A2 y ciertos péptidos han mostrado actividad contra microorganismos como gram positiva y gram negativa y, hongos, patógenos y en algunos casos protozoos. Estos afectan la membrana celular microbiana, similar a los antibióticos peptídicos (Calvete JJ.2014).

Así que la bioprospección del veneno de *Micrurus* podría generar antibióticos de nueva generación especialmente contra cepas resistentes, fármacos, fitopatógenos como medio de control, y debe de profundizarse en como el uso de estos productos como protección y control, no afecten al consumidor final de los productos (Verma, n. 2025).

**Veneno de Bothrops Asper.** Esta serpiente venenosa está distribuida en nuestro país en ambientes cálidos y clima tropical lluvioso, en bosque húmedos. Son cazadoras activas y se alimentan principalmente de pequeños vertebrados de sangre caliente. La *Bothrops asper* (mapaná, “cuatro narices”, jergón) se distribuye en Colombia principalmente en tierras bajas en piedemontes húmedos al occidente de la cordillera de los Andes, en ambientes cálidos de clima tropical lluvioso y bosques húmedos de baja elevación. Es una especie de hábitos cazadores activos cuya dieta se compone sobre todo de pequeños vertebrados homeotermos. El veneno de *B. asper* es una mezcla compleja dominada por proteínas (p. ej., metaloproteinasas de veneno —SVMP—, serin-proteasas, lectinas tipo C y fosfolipasas A<sub>2</sub>) y, en menor proporción, componentes no proteicos (aminas biógenas y péptidos vasoactivos). Esta composición explica su cuadro clínico característico: dolor local intenso, edema, hemorragia y compromiso sistémico asociado a alteraciones hemostáticas y mionecrosis. En contraste, los venenos de serpientes de coral (*Micrurus* spp.) son predominantemente neurotóxicos —con toxinas de tres dedos (3FTx) y fosfolipasas A<sub>2</sub> neurotóxicas— que afectan la transmisión neuromuscular y pueden conducir a parálisis respiratoria. Así, mientras el veneno de *Micrurus* se orienta principalmente a la neurotoxicidad, el de *B. asper* es sobre todo hemotóxico y citotóxico, con efectos locales y sistémicos vinculados a proteólisis, hemorragia y miotoxicidad (Saldarriaga-Córdoba et al., 2017). Precisamente es el motivo por el cual este veneno a esta investigación, haciendo una comparación mucho más completa.

### ***Biopelícula como Medio de Aplicación de Compuestos Antimicrobianos***

Las películas de recubrimiento o biopelículas formuladas con compuestos antimicrobianos han surgido como estrategias innovadoras para controlar fitopatógenos en cultivos y alimentos de origen vegetal. Estas películas no solo funcionan como barreras protectoras que pueden prolongar la vida útil, sino también como sistemas activos de liberación de agentes bioactivos que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos en la superficie de los alimentos. (Solano-Doblado et al., 2018).

La incorporación de compuestos antimicrobianos en recubrimientos comestibles puede reducir de forma significativa la incidencia de enfermedades poscosecha. Por ejemplo, se ha demostrado que las películas a base de cera de carnauba, enriquecidas con aceites esenciales específicos como *Cymbopogon martinii*, mejoran su eficacia antifúngica frente a patógenos como *Monilinia fructicola* y *Rhizopus stolonifer*. Esta aplicación disminuye la severidad de la enfermedad y favorece la conservación de las cualidades sensoriales y nutricionales de frutas tratadas como la papaya (Filho et al., 2022). Este enfoque subraya el potencial de utilizar agentes antimicrobianos de origen vegetal acordes con la preferencia del consumidor por métodos naturales de preservación de alimentos.

Además de los aceites esenciales, se han integrado compuestos antimicrobianos novedosos, de origen natural o sintético, en matrices biopoliméricas. Por ejemplo, la quitosana, un biopolímero con propiedades antimicrobianas inherentes, se ha empleado junto con aceites esenciales para crear películas eficaces con actividad antimicrobiana robusta (Torlak & Nizamlioglu, 2011). Los efectos sinérgicos de estas combinaciones permiten aumentar la eficacia antimicrobiana y, potencialmente, reducir las concentraciones requeridas de los agentes activos,

minimizando así los efectos adversos en los consumidores y el medio ambiente (Roy et al., 2023).

La investigación también ha destacado las ventajas de usar recubrimientos antimicrobianos en aplicaciones de empaque. Estos recubrimientos pueden extender la vida útil de productos frescos al modular la liberación de los antimicrobianos incorporados para inhibir activamente el crecimiento de patógenos. Su aplicación contribuye a mitigar el deterioro microbiano y a mejorar la inocuidad de los alimentos (Tsouti et al., 2023). Al prolongar la frescura, estos recubrimientos ayudan a reducir el desperdicio de alimentos, un tema crítico para la agricultura y la distribución sostenibles (Perazzo et al., 2017).

No obstante, la formulación y la aplicación práctica de estos recubrimientos plantean desafíos. La eficacia de los compuestos antimicrobianos puede variar según factores ambientales, los materiales del recubrimiento y los métodos de aplicación. Además, aunque las películas comestibles pueden mejorar la inocuidad, es necesario optimizar sus propiedades mecánicas y funciones de barrera para asegurar una protección adecuada tanto frente a la pérdida de humedad como a la contaminación microbiana (Dhumal & Sarkar, 2018). Asimismo, los marcos regulatorios para recubrimientos comestibles exigen evaluaciones rigurosas que garanticen su seguridad para el consumo y su efectividad en condiciones reales (Royo et al., 2010).

## Metodología

### **Obtención de Materias Primas; Aceite Esencial de Citronela y Venenos.**

Las hojas de citronela para la obtención del aceite esencial fueron obtenidas de cultivos en la vereda Lourdes de Santuario, Antioquia, Colombia, obteniendo de esta mediante arrastre de vapor el aceite esencial.

Los venenos liofilizados de *Micrurus mipartitus* (MM) y *Micrurus dumerilii* (MD) y *Bothrops asper* (BA), fueron suministrados por el serpentario de la Universidad de Antioquia.

### ***Extracción del Aceite Esencial de Citronela***

Luego de 5 meses de cosechado, se recolectó el material vegetal de *cymbopogon citratus* (citronela). Tras la recolección, el material se dividió en dos tratamientos: uno con hojas frescas y otro con hojas pre secadas. Para el material pre secado, se tomaron 5 lotes, cada uno con peso inicial de 10kg. Las hojas se mantuvieron 24 h a temperatura ambiente (16–26 °C), favoreciendo una deshidratación natural.

Luego se toman otros 5 lotes de materia prima con un peso cada uno de 10 kg no deshidratados. En ambos casos se evitó recolectar material con presencia de gotas o humedad superficial.

La extracción del aceite esencial de citronela (AEC) se realizó por destilación con arrastre de vapor no saturado. Para ello, se cargaron en el tanque de extracción porciones equivalentes de cada tratamiento y se puso en marcha la caldera, permitiendo el paso de vapor a través del lecho vegetal para arrastrar los compuestos volátiles. El vapor se generó en una caldera entre 15psi, máximo hasta 22psi, pasando el vapor al recipiente de destilación, el cual pasa por una cámara inferior, antes de pasar por la rejilla contenedora de la hierba aromática.

Los vapores ascendieron por el cuello de ganso y se dirigieron a un serpentín de condensación con flujo de agua en contracorriente, mantenido entre 12–16 °C, donde el vapor condensó a fase líquida. El condensado (mezcla de hidrolato y aceite esencial) se recolectó en un recipiente separador.

Finalmente, el aceite se separó del hidrolato (fase acuosa) por diferencia de densidades utilizando un embudo de decantación. La metodología se basó en (Muñoz López de Bustamante 1996). El rendimiento del AEC destilado fue calculado según la siguiente ecuación, donde  $W_{AEC}$  equivale a los gramos obtenidos del AEC y  $W_i$  equivale al peso inicial del material vegetal usado para el proceso de extracción.

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{W_{AEC}}{W_i} \times 100$$

**Humedad en las Hojas de Citronela.** Para evaluar el contenido de humedad en las hojas de citronela, se tomaron 4kg de hojas frescas de citronela (recién cosechadas) y dividieron en lotes de 1kg, cada uno se introdujo en un horno, tomando el peso cada 2 horas hasta su peso fuera constante. El horno se mantuvo a una temperatura de 100°C durante las primeras 6 horas y luego se bajó a 75°C por 2 horas, para finalizar a una temperatura de 50°C, con un tiempo total de deshidratación por muestra de 13 horas. El porcentaje de humedad se calcula siguiendo la siguiente ecuación.

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final en horno (seco)}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

### **Preparación de la Solución Filmogénica**

Las soluciones formadoras de películas fueron realizadas empleando la formulación establecida previamente por (Reyes et al., 2021). Como macromolécula se utilizó gelatina tipo A,

glicerol como plastificante y Tween 80 como emulsificante. Considerando los niveles de incorporación de los compuestos activos (Ziani et al., 2008). La presencia de glicerol y Tween 20 en la formulación mejora la tensión superficial de las soluciones formadoras de película, así como una estructura química más favorable receptora del medio, además de tener mejores propiedades ópticas, mecánicas y de permeabilidad al vapor de agua (Ziani, et al., 2008).

### **Prueba de Inhibición por el Método Microdilución en Caldo**

Se empleó el método de microdilución en caldo colorimétrico siguiendo el protocolo descrito por (Gómez Sampedro, L. J. 2013), con algunas modificaciones. Para la preparación del inóculo, cada cepa bacteriana (*Pectobacterium sp.* y *Xanthomonas campestris*) fue incubada durante 24 h a 37 °C en caldo Mueller-Hilton, y ajustada a una densidad final de 10<sup>8</sup> UFC/mL (estándar de McFarland de 0.5). Se realizaron diluciones sucesivas del AEC entre 6 a 0.37 mg/mL diluyéndolo tanto en dimetilsulfóxido (DMSO) como en la solución filmogénica, y de los 3 venenos a concentraciones entre 0.15 y 0.09 mg/mL diluidos en agua estéril y en la solución filmogénica. Se utilizaron microplatos de 96 pozos fondo plano, mezclando en cada pozo 20 µL de la muestra, 80 µL de caldo Mueller-Hilton y 100 µL del inóculo. Como control se usó el medio de cultivo y la solución filmogénica, y cada muestra se evaluó por triplicado. Los microplatos fueron incubados a 37 °C durante 4 h. La lectura se realizó adicionando 20 µL de colorante vital bromuro de 3-4,4-di-methylthiazolyl-2-2,5 diphenyltetrazolium (MTT) a 0.8 mg/mL a cada uno de los pozos, e incubando a 37 °C durante 1 h, para permitir a las células vivas metabolizar el MTT. Finalmente se realizó la medición de la absorbancia a 660 nm, mediante un lector multipocillo Varioskan Lux (Thermo Fisher Scientific, EEUU) y los resultados son reportados como porcentaje de inhibición con respecto al control.

Adicionalmente, se evaluó la actividad antibacteriana del AEC mezclado con cada uno de los 3 venenos, con el fin de identificar posibles efectos sinérgicos. Así, se adicionó en cada pozo de la microplaca 20  $\mu\text{L}$  de una mezcla que contenía AEC a una concentración de 1.5 mg/mL y cada uno de los venenos a una concentración de 0.024 mg/mL, se ajustó a un volumen de 200  $\mu\text{L}$  con el medio de cultivo e inóculo, y se continuó con el procedimiento según lo descrito previamente.

### **Análisis Estadístico**

Los resultados obtenidos fueron evaluados estadísticamente empleando el software Stagraphics® Centurion XV (Virginia, EE. UU.). Los valores se expresaron como la media  $\pm$  desviación estándar. Las diferencias entre las medias se identificaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), seguido un test HSD (Honestly-significant-difference) de Tukey, con un nivel de significación de 0,05 (95% de confianza).

## Resultados y discusión

### Extracción del Aceite Esencial de Citronela

En primera instancia se validó el contenido de humedad en las hojas de citronela, análisis que se realizó por cuadruplicado. Los resultados mostraron un porcentaje de humedad de  $87,03 \pm 0,17$  %.

Posteriormente se realizó el proceso de extracción del AEC a partir de las muestras pre secadas y frescas (5 réplicas para cada tratamiento). En las tablas 1 y 2, se pueden ver los resultados del rendimiento de la extracción del AEC.

#### *Proceso de Destilación:*

Con el proceso de pre secado realizado a temperatura ambiente durante 24 h, se encontró una pérdida de peso del  $1.8 \pm 0,12$  kg para cada lote de 10 kg, es decir se alcanzó una pérdida de humedad del  $18 \pm 0,025$  % respecto al peso inicial. Para el proceso de destilación realizado con estas hojas pre secadas (Tabla 1), se evidenció un volumen de aceite esencial de citronela (AEC) promedio de  $8,42 \pm 0,3$  mL por cada kg de material vegetal, alcanzándose un rendimiento promedio de  $0,73 \pm 0,06$  % teniendo en cuenta que la densidad del AEC obtenido fue de  $0,87 \pm 0,0102$  g/ml.

**Tabla 1***Rendimiento de Extracción de AEC en Muestra Pre Secada.*

Muestra	Peso tras pre-secado (kg)	Volumen AEC extraído (mL)	g AEC/ 10kg sustrato seco	% Rendimiento
1	8,1	83	72,21	0,72
2	8,2	87	75,69	0,76
3	8,23	86	74,82	0,75
4	8,1	84	73,08	0,73
5	8,2	81	70,47	0,70
promedio	8,2	84,2	73,25	0,73

Fuente: Propia autoría (2025)

Por otro lado, en la tabla 2, se reportan los valores obtenidos en el proceso de destilación usando el material vegetal recién recogido, es decir sin dejarlo secar las 24 h. Los resultados obtenidos, muestran un rendimiento de  $9,1 \pm 0,175$  mL de aceite esencial de citronela por cada kg de material vegetal, es decir se tuvo un rendimiento de extracción de  $0,784 \pm 0,024$  %.

**Tabla 2***Rendimientos de Extracción de AEC en Muestras Frescas (Acabados de Cosechar)*

Muestra	Volumen AEC extraído (mL)	g AEC/ 10 kg sustrato fresco	% Rendimiento
1	87	75,69	0,76
2	91	79,17	0,79
3	92,5	80,475	0,80
4	91	79,17	0,79
5	89	77,43	0,77
promedio	90,1	78,39	0,78

Fuente: Propia autoría (2025)

Como se presenta en la figura 2, los resultados obtenidos muestran que el material vegetal fresco alcanzó un mayor rendimiento de extracción, presentando diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Esta diferencia, aunque relativamente pequeña, favorece al material fresco y confirma hallazgos reportados por otros autores. Por ejemplo, Timung et al. (2016) reportaron que el contenido de humedad del material vegetal tiene un efecto significativo sobre el rendimiento del aceite, y cantidad del aceite de citronela extraído en hojas frescas presentó un mayor rendimiento que la muestra seca tras 3 h de destilación.

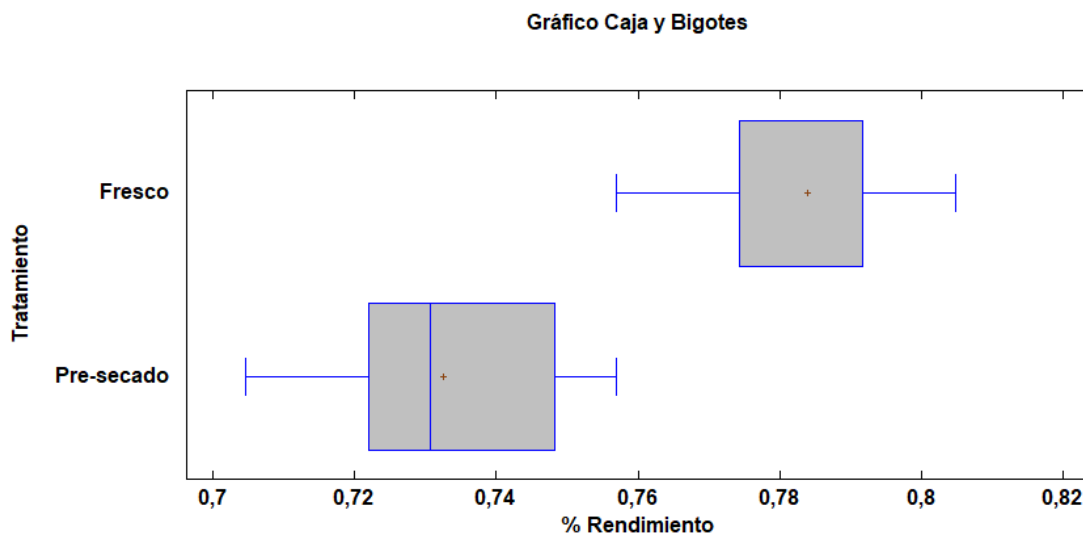
Este fenómeno podría explicarse por la pérdida de compuestos volátiles durante el proceso de marchitamiento (secado). Aunque el aceite esencial de citronela no comienza su evaporación masiva hasta temperaturas superiores a 100°C, los terpenos que lo componen

(citronelal, citronellol, geraniol y limonene) presentan presiones de vapor significativas a temperatura ambiente. Estudios termogravimétricos demuestran que a temperatura ambiente, los compuestos volátiles del aceite de citronela pueden perder hasta 29-51% de su contenido en las primeras 1-2 horas de exposición, con pérdidas aún mayores en períodos prolongados. Durante las 24 horas de pre-secado a temperatura ambiente, los compuestos volátiles más lábiles podrían haber sido parcialmente evaporados, resultando en una reducción de la cantidad de extractables disponibles durante la destilación posterior. Aunque la reducción de humedad del  $18 \pm 0,025$  % facilitaría la liberación del aceite durante la destilación, esta ventaja podría haber sido contrarrestada por la pérdida de volátiles previa, explicando así por qué el rendimiento del material fresco superó ligeramente al del material pre-secado (Ren et al., 2022; Timung et al., 2016).

Por otro lado, es importante recalcar que estos análisis de rendimiento, además de identificar el mejor proceso de adecuación del material vegetal para hacer el proceso de extracción, buscó cuantificar el costo de producción respecto a su rendimiento en AEC; concluyendo un costo por ml de \$2.274 pesos COP.

## Figura 2

Gráfico de Cajas y Bigotes Análisis Estadístico Tratamiento Extracción AEC



Nota.. Adaptado de Grafica estadística citronela deshidratada vs fresca], 2025 Fuente Autoria propia

Los rendimientos obtenidos en el presente estudio ( $0,73 \pm 0,06$  % para material pre-secado y  $0,784 \pm 0,024$  % para material fresco) se encuentran dentro del rango reportado en la literatura científica para la extracción de AEC mediante destilación por arrastre de vapor. Cassel y Vargas (2006) reportaron un rendimiento máximo de 0,942% para *Cymbopogon nardus* con material natural bajo condiciones optimizadas de extracción. De manera similar, un estudio reciente sobre optimización de extracción de aceite de citronela mediante destilación por vapor reportó un rendimiento promedio de 0,0458%, siendo este valor considerablemente inferior al del presente estudio, probablemente debido a diferencias en la metodología de extracción y el tiempo de destilación. Por otro lado, Dangol et al. (2023) reportaron rendimientos de hidro-destilación del 1,3-2,2% para hojas de *Cymbopogon* spp., siendo estos valores ligeramente superiores a los

del presente trabajo; sin embargo, estos autores señalan que el rendimiento varía significativamente según la metodología empleada, el estado del material vegetal y las condiciones operacionales del proceso.

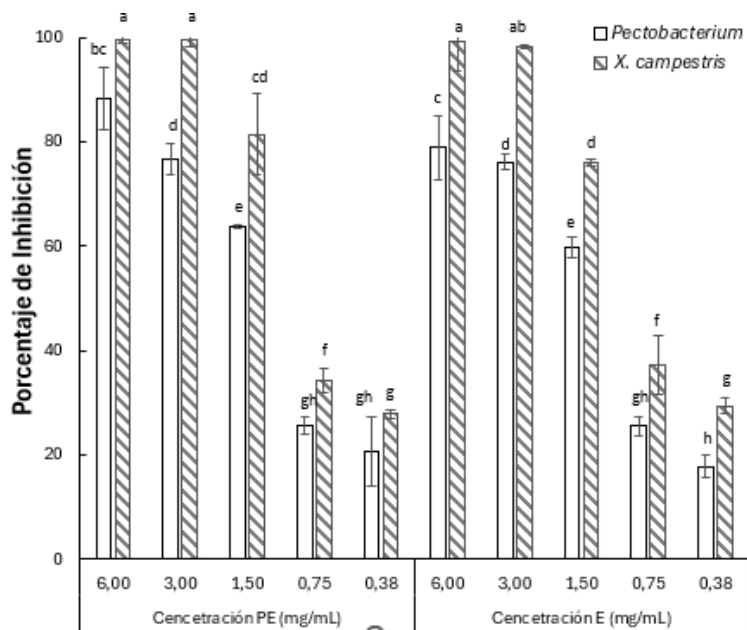
### **Evaluación de la Actividad Antibacteriana de una Biopelícula Funcionalizada con Aceite Esencial de Citronela y Veneno Completo de Diferentes Serpientes**

El AEC mostro actividad antimicrobiana dosis dependiente sobre *Pectobacterium* sp y *Xanthomonas campestris* (Figura 3) siendo mayor el efecto sobre esta última. El efecto fue observado tanto diluido en DMSO (E) como incorporado a la solución filmogénica para biopelícula (PE). La alta actividad presentada por el AEC puede deberse al contenido citronelol (hasta el 50%), el cual se ha demostrado que actúa sobre las bacterias Gram-negativas dañando y desestabilizando su membrana celular externa y citoplasmática, provocando una serie de efectos que conducen a la muerte de la célula (Chen et al., 2022; Clarke, S. 2008). El AEC actúa sobre los microorganismos, afectando la fluidez, alterando su conformación y función, y promoviendo un carácter hidrófilo en la superficie celular. Esto puede llevar a la inhibición de su crecimiento (acción bacteriostática o fungistática) o a su muerte (acción bactericida o fungicida), dependiendo de la concentración y la especie microbiana (Argote-Vega 2017; Zhou et al., 2022).

Por otro lado, el geraniol (otro de los componentes mayoritarios del aceite esencial de citronela), ejerce su actividad antimicrobiana mediante mecanismos similares a los de otros terpenoides, causando daño estructural y funcional a la membrana celular bacteriana. Su naturaleza lipofílica le permite penetrar las barreras bacterianas, incluyendo la membrana externa característica de las bacterias gram-negativas, lo que facilita su acción antimicrobiana contra este tipo de patógenos (Timung et al., 2016).

**Figura 3**

*Actividad Antibacteriana del AEC Diluido en la Solución Filmogénica (PE) y Diluido en DMSO (E).*



Nota. Adaptado de Actividad antibacteriana AEC en PE y DMSO <sup>a-h</sup> Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) Por leidy.

En la tabla 3 se pueden evidenciar los  $IC_{50}$  del AEC para ambas cepas bacterianas, es decir la concentración de AEC necesario para inhibir el 50% del crecimiento de las bacterias. Los resultados sugieren que la solución filmogénica no modifica la actividad antibacteriana de la citronela frente a las dos bacterias evaluadas, lo que demuestra la viabilidad de utilizar estas biopelículas como un medio de aplicación del biocompuestos.

**Tabla 3**

*IC50 de la biopelícula funcionalizada con aceite esencial de citronela y del aceite esencial diluido en DMSO*

Microorganismo	IC 50 (%)	
	Aceite esencial en biopelícula (mg/mL)	Aceite esencial en DMSO (mg/mL)
Pectobacterium	1,21 ± 0.05 <sup>a</sup>	1,28 ± 0.01 <sup>a</sup>
X. campestris	0,92 ± 0.03 <sup>b</sup>	0,93 ± 0.17 <sup>b</sup>

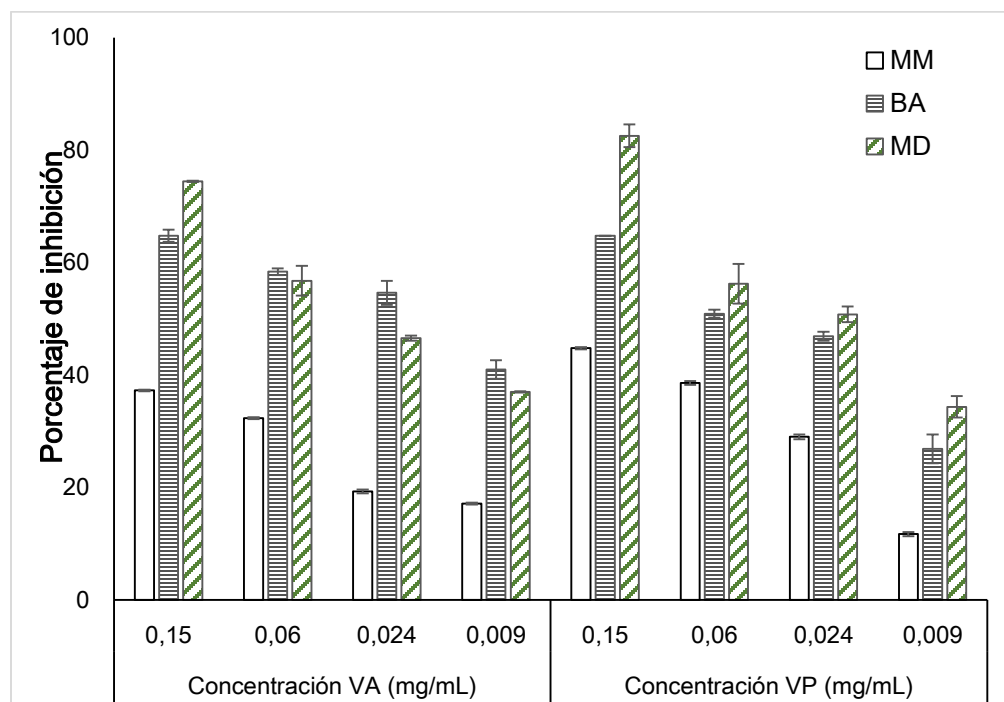
Nota: <sup>a-b</sup> Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) Fuente Autoria propia.

En la figura 4 y 5, se presenta la actividad antibacteriana de los venenos MM: *mipartitus*, BA: *asper* y MD: *dumerilii* a diferentes concentraciones. En las figuras se puede notar que la biopelícula funcionalizada con el veneno MD presenta la mayor actividad antibacteriana. Alcanzándose una inhibición del  $82,50 \pm 0,024$  % a 0,15 mg/mL sobre *Xanthomonas campestris*, Bacteria que es más susceptible al efecto antibacteriano de los venenos. Estos resultados coinciden con estudios que muestran que los venenos de coral, especialmente los de género *Micrurus*, contienen toxinas como fosfolipasas A2 (PLA2s), L-aminoácido oxidasas (LAAOs) y péptidos bioactivos capaces de inhibir el crecimiento bacteriano (Bocian & Hus, 2020). Particularmente el veneno de *M. dumerilii* contiene toxinas multifuncionales, capaces de alterar el metabolismo bacteriano e inducir estrés oxidativo a través de la producción de peróxido de hidrógeno, especialmente por acción de LAAO. Además, estudios en Colombia han demostrado que este veneno contiene una combinación particular de PLA2s y toxinas tipo tres

dedos (3FTx), lo que puede explicar su capacidad antimicrobiana superior en comparación con *B. asper* y *M. mipartitus*, cuyo perfil toxicológico es menos especializado en actividad antimicrobiana (Rey-Suárez et al., 2018; Pereañez et al., 2023).

#### Figura 4

*Actividad Antibacteriana de Veneno Completo de Micrurus Mipartitus (MM), Micrurus Dumerilii (MD) y Bothrops Asper (BA), Diluidos en la Solución Filmogénica (VP) y Diluidos en Agua (VA), Frente a Xanthomonas Campestris.*



*Nota.* Actividad antibacteriana de la biopelícula funcionalizada con veneno completo MM,MD Y BA frente a *Xanthomonas campestris* Fuente leidy

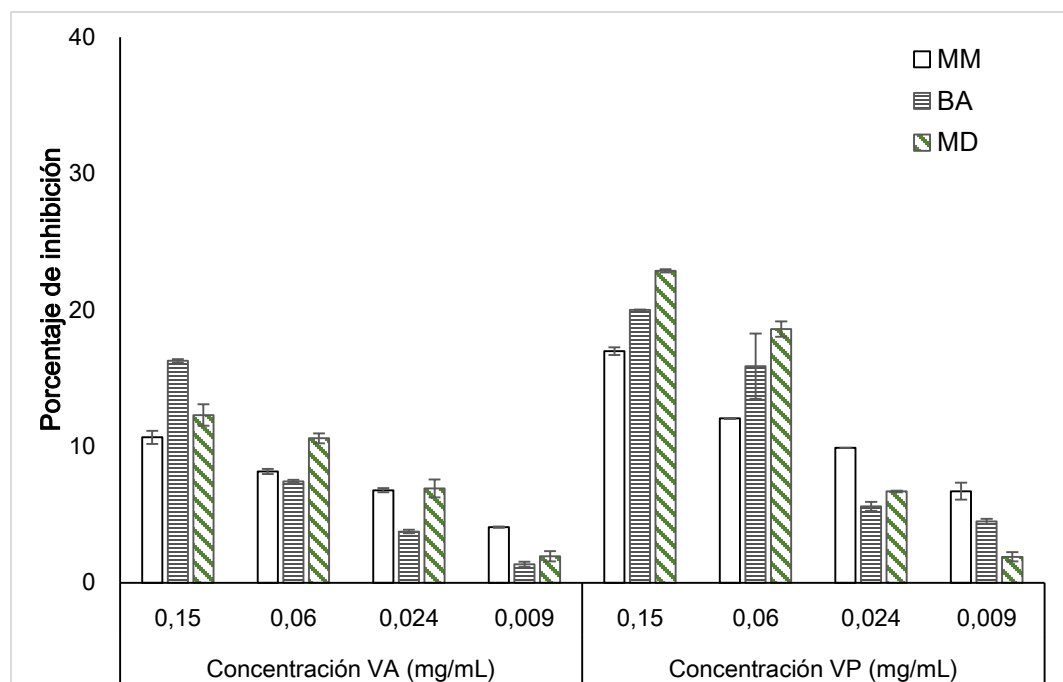
En la figura 5 se observa que en general los venenos de serpiente presentan una menor actividad inhibidora frente a la bacteria *Pectobacterium sp.* siendo el veneno MD, el que presenta la mayor actividad, inhibiendo en un  $22.90 \pm 0,018$  % el crecimiento de la *Pectobacterium* con

una concentración de 0,15 mg/mL. Estos resultados son consistentes con reportes que indican que la eficacia antimicrobiana de venenos de serpiente varía mucho según la bacteria objetivo y está influenciada por factores como la presencia de exopolisacáridos, organización celular y resistencia intrínseca de las bacterias fitopatógenas (Khan et al., 2023).

Por otro lado, en general los resultados mostraron que los venenos presentan mayor actividad antimicrobiana cuando están incorporados en la biopelícula funcionalizada respecto a su uso en solución acuosa. Este fenómeno se puede atribuir a la protección frente a degradación, mayor estabilidad y liberación controlada de los componentes activos, favoreciendo su eficacia antimicrobiana en aplicaciones agrícolas o biotecnológicas. Las biopelículas mejoran la interacción prolongada entre los agentes tóxicos y las células bacterianas, lo que aumenta el tiempo de exposición y la potencia inhibitoria total (Nunes et al., 2020).

### Figura 5

Actividad Antibacteriana de Veneno Completo de *Micrurus Mipartitus* (MM), *Micrurus Dumerilii* (MD) y *Bothrops Asper* (BA), Diluidos en la Solución Filmogénica (VP) y Diluidos en Agua (VA), Frente a *Pectobacterium sp.*



Nota. Actividad antibacteriana de la biopelícula funcionalizada con veneno completo MM, MD Y BA ), frente a *Pectobacterium sp* Fuente leidy

### Efecto Sinérgico Entre el AEC y los Venenos Completos

Al evaluar la mezcla de AEC con los venenos de serpiente, se observó una mejora en la inhibición del efecto antimicrobiano, alcanzando casi el 100% (Figura 6). Resultados similares fueron obtenidos cuando se preparó la solución filmogénica con esta mezcla. El efecto es especialmente marcado sobre *Pectobacterium sp.*, donde los componentes por separado presentan menor actividad a las concentraciones ensayadas (AEC:  $63,7 \pm 0,28\%$ ; venenos: 6–9%), mientras que las mezclas exhiben inhibiciones del 94–100%. La acción en *X campestris*

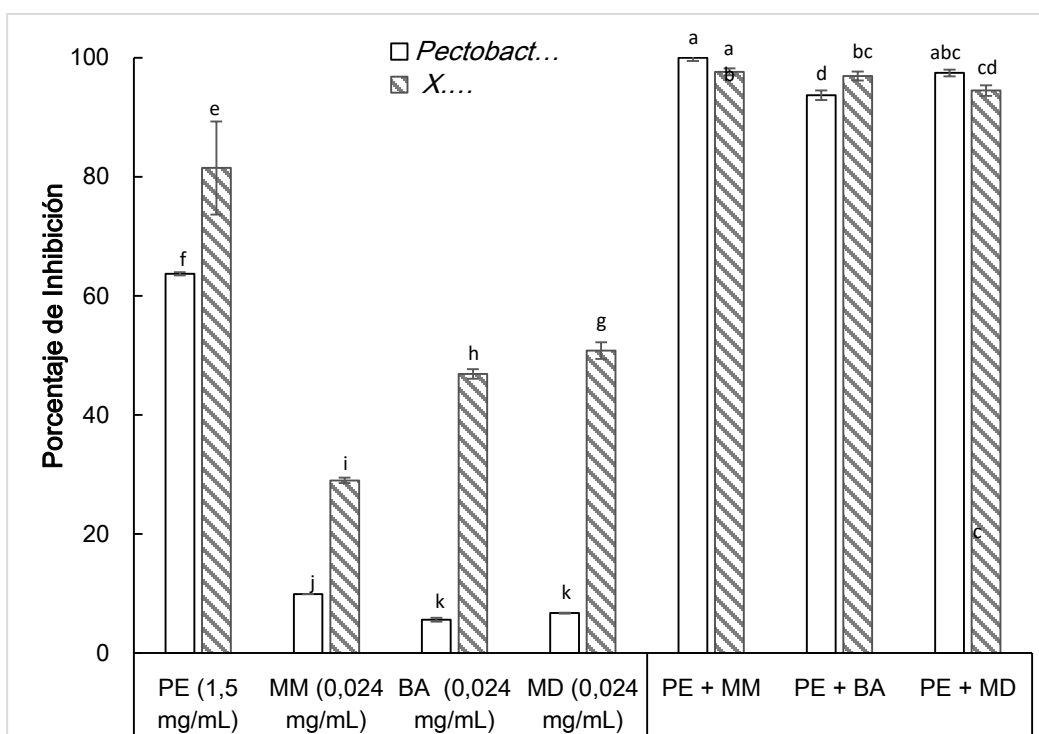
mostró una menor diferencia, teniéndose una actividad del AEC:  $81,7 \pm 0,28\%$  mientras que las mezclas exhiben inhibiciones del 95–98%.

En conjunto, estos datos evidencian un efecto sinérgico entre el AEC funcionalizado en PE y las proteínas de veneno evaluadas. Estos hallazgos subrayan la importancia de explorar combinaciones de bioactivos para maximizar la eficacia antimicrobiana, un enfoque que ha mostrado resultados prometedores en estudios previos sobre sinergismo (Vaou et al., 2022).

### Figura 6

Actividad Antibacteriana del AEC Diluido en la Solución Filmogénica (PE) y Venenos

Completos de *Micrurus Mipartitus* (MM) y *Micrurus Dumerilii* (MD) y *Bothrops Asper* (BA).



*Nota.* Actividad antibacteriana del AEC diluido en la solución filmogénica (PE) y venenos completos veneno completo MM,MD Y BA., 2025, <sup>a-k</sup> Diferentes letras indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) Fuente leidy

Es importante destacar que, como se observa en la figura 6, al emplear el aceite esencial de citronela (AEC) diluido en la biopelícula junto con el veneno de serpiente, se requiere únicamente una concentración de 1,5 mg/mL de AEC y una mínima cantidad de veneno para lograr una eficiencia inhibitoria cercana al 100%. En contraste, cuando el AEC se aplica sin mezclar con veneno, es necesario duplicar la concentración (3 mg/mL) para alcanzar un nivel de inhibición similar (Figura 3). Este resultado evidencia un claro efecto sinérgico entre ambos componentes, optimizando el potencial antimicrobiano de la formulación y permitiendo reducir la cantidad requerida de aceite esencial para obtener máxima actividad.

## Conclusiones

La destilación de AEC por arrastre de vapor arrojó rendimientos promedio de  $0,73 \pm 0,06$  % con material secado 24 h y  $0,784 \pm 0,024$  % con hojas frescas cosechadas, indicando que el uso de biomasa fresca al momento de la cosecha maximiza la recuperación de aceite esencial.

Los resultados obtenidos muestran que el aceite esencial de citronela (AEC) presenta una inhibición dosis-dependiente una mayor efectividad antimicrobiana frente a *Xanthomonas campestris* ( $IC_{50}$  de  $0,92 \pm 0,03^b$  –  $0,93 \pm 0,17^b$  mg/mL) en comparación con *Pectobacterium sp.* ( $IC_{50}$  de  $1,21 \pm 0,05^a$  –  $1,28 \pm 0,01^a$  mg/mL). La aplicación del AEC en película, aunque no potencia directamente la actividad antibacteriana, sí aporta ventajas tecnológicas significativas para su aplicabilidad, protección frente a la degradación por contacto con agua, rayos UV y condiciones ambientales adversas, lo que mejora la viabilidad de su uso en escenarios agrícolas.

Los venenos de *Micrurus mipartitus*, *Micrurus dumerilii* y *Bothrops asper* demostraron actividad antibacteriana, siendo particularmente efectivos contra *Xanthomonas campestris*. Destaca el veneno de *M. dumerilii* incorporado en matriz filmogénica, que a una concentración de 0,15 mg/mL logró inhibir el crecimiento de *X. campestris* en un  $82,50 \pm 0,024$  % y el de *Pectobacterium* en un  $22,90 \pm 0,018$  %. Al comparar estos resultados con el AEC, se observa que el veneno exhibe una mayor eficiencia, ya que el AEC a 0,38 mg/mL alcanzó inhibiciones de solo 27,8% para *X. campestris* y 20,6% para *Pectobacterium*. Esto sugiere que los venenos, en particular el de *M. dumerilii*, constituyen alternativas interesantes para el control de fitopatógenos agrícolas, superando la efectividad del AEC a concentraciones equivalentes.

Un aporte clave de este trabajo es la demostración del efecto sinérgico entre el AEC y el veneno de serpiente. La mezcla de AEC y venenos (especialmente MD o MM) permite alcanzar el 100% de inhibición con menores cantidades (1,5 mg/mL de AEC y 0,024 mg/mL de veneno),

optimizando el uso de ambos recursos. Así pues, aunque el AEC puede ser empleado de forma independiente dada la facilidad y economía de extracción, los resultados confirman que la combinación maximiza la actividad antimicrobiana contra *X. campestris* y *Pectobacterium*, lográndose un excelente desempeño aplicable en el control fitopatógico agroalimentario.

Los venenos tienen compuestos tóxicos para el consumo humano, en cambio el aceite esencial tiene un índice de toxicidad muy bajo. Si usamos el poder sinérgico de la mezcla de AEC y Venenos, en especial MD Y MM, necesitamos investigar como aislar el compuesto toxico y el tiempo de carencia de los venenos para garantizar que los cultivos fumigados por estos productos puedan ser consumidos sin ningún problema.

### Referencias Bibliográficas

- Ábrahám, Á., Dér, L., Csákvári, E., Vizsnyiczai, G., Pap, I., Lukács, R., ... & Galajda, P. (2024). Respuesta de detección de quórum mediada por LasR a nivel unicelular de *Pseudomonas aeruginosa* a pulsos de moléculas de señal. *Informes científicos*, *14* (1), 16181.
- Ahmed, W., Zhang, Q., Lobos, A., Senkbeil, J., Sadowsky, M. J., Harwood, V. J., ... & Ishii, S. (2018). Precipitation influences pathogenic bacteria and antibiotic resistance gene abundance in storm drain outfalls in coastal sub-tropical waters. *Environment international*, *116*, 308-318.
- Aizawa, S. I. (2014). *Pectobacterium carotovorum*-Subpolar Hyper-Flagellation. *The Flagellar World*, 58-59.
- Alam, I., Ojha, R., Ma, A., Quasimi, H., & Alam, O. (2019). Therapeutic potential of snake venoms as antimicrobial agents. *Frontiers in Drug Chemistry and Clinical Research*, *2*(4). <https://doi.org/10.15761/fdccr.1000136>
- Alvarez-Martinez, C. E., Sgro, G. G., Araujo, G. G., Paiva, M. R., Matsuyama, B. Y., Guzzo, C. R., ... & Farah, C. S. (2021). Secrete or perish: the role of secretion systems in *Xanthomonas* biology. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, *19*, 279-302.
- Argote-Vega, F. E., SUAREZ-MONTENEGRO, Z. J., TOBAR-DELGADO, M. E., PEREZ ALVAREZ, J. A., HURTADO-BENAVIDES, A. N. D. R. E. S., & DELGADO-OSPINA, J. O. H. A. N. N. E. S. (2017). Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Biotecnología en el sector Agropecuario y Agroindustrial*, *15*(SPE2), 52-60.

- Ayaz, M., Li, C., Ali, Q., Zhao, W., Chi, Y., Shafiq, M., ... & Huang, W. (2023). Bacterial and fungal biocontrol agents for plant disease protection: journey from lab to field, current status, challenges, and global perspectives. *Molecules*, 28(18), 6735.  
<https://doi.org/10.3390/molecules28186735>
- Barathan, M. and Hanafiah, A. (2025). Snake venom compounds: a new frontier in the battle against antibiotic-resistant infections. *Toxins*, 17(5), 221.  
<https://doi.org/10.3390/toxins17050221>
- Bocian, A., & Hus, K. K. (2020). Antibacterial properties of snake venom components. *Chemical papers*, 74(2), 407-419.
- Bubici G, Kaushal M, Prigigallo MI. et al. 2019. *Biological Control Agents Against Fusarium Wilt of Banana Front Microbiol.* 10: 616. doi: 10.3389/fmicb.2019.00616.
- Calvete, J. J. (2014). Next-generation snake venomomics: protein-locus resolution through venom proteome decomplexation. *Expert review of proteomics*, 11(3), 315-329.
- Cassel, E., & Vargas, R. M. (2006). Experiments and modeling of the *Cymbopogon winterianus* essential oil extraction by steam distillation. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 50(3), 126-129.
- Charkowski, A. O. (2015). Biology and control of *Pectobacterium* in potato. *American Journal of Potato Research*, 92(2), 223-229.
- Chen, Z., Tang, Y., Lü, Z., Meng, X., Liang, Q., & Feng, J. (2022). Citronella oil nanoemulsion: formulation, characterization, antibacterial activity, and cytotoxicity. *Acta Physico Chimica Sinica*, 0(0), 2205053-0. <https://doi.org/10.3866/pku.whxb202205053>
- Clarke, S. (2008). Families of compounds that occur in essential oils. (second edicion) *Essential chemistry for aromatherapy*, 41-77.

- Dangol, S., Poudel, D. K., Ojha, P. K., Maharjan, S., Poudel, A., Satyal, R., ... & Setzer, W. N. (2023). Essential oil composition analysis of *Cymbopogon* species from Eastern Nepal by GC-MS and chiral GC-MS, and antimicrobial activity of some major compounds. *Molecules*, 28(2), 543.
- Departamento Nacional de Planeación (DNP). (2011, 14 de junio). Política para el desarrollo comercial de la biotecnología a partir del uso sostenible de la biodiversidad (Documento CONPES 3697). Departamento Nacional de Planeación. <https://hdl.handle.net/11146/231>
- Departamento Nacional de Planeación (DNP). (2021, 20 de diciembre). *Política nacional de ciencia, tecnología e innovación 2022–2031 (Documento CONPES 4069)*. Departamento Nacional de Planeación. <https://colaboracion.dnp.gov.co/CDT/Conpes/Econ%C3%B3micos/4069.pdf>
- Dhumal, C. and Sarkar, P. (2018). Composite edible films and coatings from food-grade biopolymers. *Journal of Food Science and Technology*, 55(11), 4369-4383. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3402-9>
- Filho, J., Silva, G., Oldoni, F., Miranda, M., Florencio, C., Oliveira, R., ... & Ferreira, M. (2022). Edible coating based on carnauba wax nanoemulsion and *cymbopogon martinii* essential oil on papaya postharvest preservation. *Coatings*, 12(11), 1700. <https://doi.org/10.3390/coatings12111700>
- Francisco Francisco, N., Gallegos Morales, G., Ochoa Fuentes, Y. M., Hernández Castillo, F. D., Benavides Mendoza, A., & Castillo Reyes, F. (2013). Aspectos fundamentales del tizón común bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* Smith): Características, patogenicidad y control. *Revista mexicana de fitopatología*, 31(2), 147-160.

- Gómez Sampedro, L. J. (2013). Propiedades biológicas de los hidrolizados enzimáticos de plasma de bovino: actividad antioxidante, antihipertensiva y antimicrobiana.
- Gutiérrez, P., & Orduz, S. (2003). Péptidos antimicrobianos: estructura, función y aplicaciones. *Actualidades Biológicas*, 25(78), 1-12.
- Hernández Rodríguez, A. (2023). El problema de la pérdida y el desperdicio de los alimentos en el mundo y la Iniciativa Mundial sobre la Reducción de la Pérdida y el Desperdicio de Alimentos Save Food de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).
- Hidalgo Dávila, J. L. (2017). La situación actual de la sustitución de insumos agroquímicos por productos biológicos como estrategia en la producción agrícola: El sector florícola ecuatoriano (Master's thesis, Universidad Andina Simón Bolívar, Sede Ecuador).
- Jonkheer, E. M., Brankovics, B., Houwers, I. M., van der Wolf, J. M., Bonants, P. J., Vreeburg, R. A., ... & van der Lee, T. A. (2021). The *Pectobacterium* pangenome, with a focus on *Pectobacterium brasiliense*, shows a robust core and extensive exchange of genes from a shared gene pool. *BMC genomics*, 22(1), 265.
- Khan, N. A., Amorim, F. G., Dunbar, J. P., Leonard, D., Redureau, D., Quinton, L., ... & Boyd, A. (2023). Inhibition of bacterial biofilms by the snake venom proteome. *Biotechnology Reports*, 39, e00810.
- Kistner, M. B., Iglesias, J., & Romero, A. M. (2013). *Explorando la complejidad de la resistencia genética a enfermedades en maíz* (Doctoral dissertation, Universidad de Buenos Aires)

- Kunstmann, J. P., Ciampi, L., Böhm, L., Barrera, S., & Collado, L. (2006). Determinación de especies de *Erwinia* (grupo carotovora) como agentes causales de pudrición blanda en *Cala* (*Zantedeschia* spp.). *Agricultura Técnica*, 66(3), 247-255.
- Mack-Wen, V. L., Rico, L. B., Alarcón, J. C., & Pereañez, J. A. (2011). Inhibición in vitro del veneno de *Bothrops asper* con extractos etanólicos de *Brownea ariza* B.(Caesalpinaceae). *Vitae*, 18(1), 43-48.
- Maeso et al., (2016) Maeso, D., Fernández, A., & Walasek, W. (2016). Control de la mancha bacteriana del tomate (*Xanthomonas* spp.) en cultivo a campo para industria mediante aplicaciones foliares, 2015-2016. *INIA. Salto Grande-Uruguay*.
- Mao, B., & dela Cueva, F. (2019). Growth-inhibiting activity of citronella essential oil to multiple fungal plant pathogens. bioRxiv, 860718. <https://doi.org/10.1101/860718>
- Memarpoor-Yazdi, M., Asoodeh, A., & Chamani, J. (2012). A novel antioxidant and antimicrobial peptide from hen egg white lysozyme hydrolysates. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 278-286.
- Misli, A.F., Rambli, M.M., Hamzah, M.H., Hamzah, A.F.A., Anoraga, S.B., Julshahril, N.H. & Shamsudin, R. (2025). Optimisation of oil extraction from lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus*) with steam distillation using Box-Behnken Design. *Letters in Food Research*, 1(3), e25030.
- Muñoz López de Bustamante, F. (1996). *Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado*. Ediciones Mundi-Prensa.
- Nunes, E., Frihling, B., Barros, E., de Oliveira, C., Verbisck, N., Flores, T., ... & Luna, K. (2020). Antibiofilm activity of acidic phospholipase isoform isolated from *Bothrops erythromelas* snake venom. *Toxins*, 12(9), 606.

- Núñez-Rangel, V., Rey-Suárez, P., Serna, A., Gómez-Robles, J., Rey-Torres, A., & Morales, E. (2023). Antimicrobial activity of *Bothrops asper* and *Porthidium nasutum* venom on purple passion fruit (*Passiflora edulis* f. *edulis*) phytopathogens. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 17(3).
- Oulghazi, S., Sarfraz, S., Zaczek-Moczydłowska, M. A., Khayi, S., Ed-Dra, A., Lekbach, Y., ... & Faure, D. (2021). *Pectobacterium brasiliense*: genomics, host range and disease management. *Microorganisms*, 9(1), 106.
- Pardeshi, L., Duivenbode, I., Pel, M., Jonkheer, E., Kupczok, A., Ridder, D., ... & Lee, T. (2024). Pangenomics to understand prophage dynamics in the *pectobacterium* genus and the radiating lineages of *p. brasiliense*. <https://doi.org/10.1101/2024.09.02.610764>
- Park, H., Nah, H., Kang, S., Choi, S., & Kim, E. (2021). Screening and isolation of a novel polyene-producing streptomyces strain inhibiting phytopathogenic fungi in the soil environment. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.692340>
- Patyka, V., Buletsa, N., Pasichnyk, L., Житкевич, Н., Калініченко, А., Gnatiuk, T., ... & Butsenko, L. (2016). Specifics of pesticides effects on the phytopathogenic bacteria. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 23(2), 311-331. <https://doi.org/10.1515/eces-2016-0022>
- Perazzo, A. F., Carvalho, G. G., Santos, E. M., Bezerra, H. F., Silva, T. C., Pereira, G. A., ... & Rodrigues, J. A. (2017). Agronomic evaluation of sorghum hybrids for silage production cultivated in semiarid conditions. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1088.
- Pereañez, J. A., Preciado, L. M., & Rey-Suárez, P. (2023). Knowledge about snake venoms and toxins from Colombia: a systematic review. *Toxins*, 15(11), 658.

- Prudnikova, S. (2019). The development of slow-released fungicide preparations based on biodegradable poly(3-hydroxybutyrate) to suppress root-rot pathogenic fungi.. <https://doi.org/10.5593/sgem2019v/6.3/s08.028>
- Rádis-Baptista, G., Moreno, F., Nogueira, L., Martins, A., Toyama, D., Toyama, M., ... & Yamane, T. (2006). Crotacetin, a novel snake venom c-type lectin homolog of convulxin, exhibits an unpredictable antimicrobial activity. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 44(3), 412-423. <https://doi.org/10.1385/cbb:44:3:412>
- Radke, J., Meinhardt, J., Aschman, T., Chua, R. L., Farztdinov, V., Lukassen, S., ... & Radbruch, H. (2024). Proteomic and transcriptomic profiling of brainstem, cerebellum and olfactory tissues in early-and late-phase COVID-19. *Nature Neuroscience*, 27(3), 409-420.
- Ren, G., Ke, G., Huang, R., Pu, Q., Zhao, J., Zheng, Q., & Yang, M. (2022). Study of the volatilization rules of volatile oil and the sustained-release effect of volatile oil solidified by porous starch. *Scientific Reports*, 12(1), 8153.
- Reyes, L. M., Landgraf, M., & Sobral, P. J. A. (2021). Gelatin-based films activated with red propolis ethanolic extract and essential oils. *Food Packaging and Shelf Life*, 27, 100607. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100607>
- Rey-Suárez, P., Acosta, C., Torres, U., Saldarriaga-Córdoba, M., Lomonte, B., & Núñez, V. (2018). MipLAAO, a new L-amino acid oxidase from the redbellied coral snake *Micrurus mipartitus*. *PeerJ*, 6, e4924.
- Rivas-Santiago, B., Sada, E., Hernández-Pando, R., & Tsutsumi, V. (2006). Péptidos antimicrobianos en la inmunidad innata de enfermedades infecciosas. *salud pública de méxico*, 48, 62-71.

- Rodríguez et al., 2017) Un análisis cuantitativo de la relación entre la experiencia laboral y las actitudes éticas empresariales en estudiantes de posgrado. *Revista de Liderazgo, Responsabilidad y Ética*, 14(3), págs. 64-75.
- Rooney, W., Chai, R., Milner, J., & Walker, D. (2020). Bacteriocins targeting gram-negative phytopathogenic bacteria: plantibiotics of the future. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.575981>
- Roy, S., Zhang, W., Biswas, D., Ramakrishnan, R., & Rhim, J. (2023). Grapefruit seed extract-added functional films and coating for active packaging applications: a review. *Molecules*, 28(2), 730. <https://doi.org/10.3390/molecules28020730>
- Royo, M., Fernández-Pan, I., & Maté, J. (2010). Antimicrobial effectiveness of oregano and sage essential oils incorporated into whey protein films or cellulose-based filter paper. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(9), 1513-1519. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3977>
- Ruiz Muñoz, B. D. (2020). Estado general de las pérdidas y desperdicios de alimentos: retos para la gastronomía colombiana.
- Saddler y Bradbury, (2005) *Aspectos fundamentales del tizón común bacterian* <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=372319>
- Saldarriaga-Córdoba, M., Parkinson, C. L., Daza, J. M., Wüster, W., & Sasa, M. (2017). Phylogeography of the Central American lancehead Bothrops asper (SERPENTES: VIPERIDAE). *PloS one*, 12(11), e0187969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187969>
- Samy, R., Gopalakrishnakone, P., Thwin, M., Chow, T., Ho, B., Yap, P., ... & Thong, T. (2007). Antibacterial activity of snake, scorpion and bee venoms: a comparison with purified

venom phospholipase a2enzymes. *Journal of Applied Microbiology*, 102(3), 650-659.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03161.x>

Sánchez-García, C., Cruz-Martín, M., Alvarado-Capó, Y., Pérez, M., Medinilla, M., Acosta-Suárez, M., ... & Roque, B. (2007). Evaluación del efecto del aceite esencial de *Cymbopogon nardus* para el control de microorganismos contaminantes del cultivo in vitro de plantas. *Biotecnología vegetal*, 7(3).

Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J. N., & Hollier, C. (2012). Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food security*, 4(4), 519-537.

Sellamuthu, P. S., Sivakumar, D., & Soundy, P. (2013). Antifungal activity and chemical composition of thyme, peppermint and citronella oils in vapor phase against avocado and peach postharvest pathogens. *Journal of Food Safety*, 33(1), 86-93.

<https://doi.org/10.1111/jfs.12026>

Singham-in, U., Thaveekarn, W., Noiphrom, J., Khow, O., Ponwaranon, S., Issara-Amphorn, J., ... & Leelahavanichkul, A. (2023). Hydrogen peroxide from l-amino acid oxidase of king cobra (*Ophiophagus hannah*) venom attenuates *Pseudomonas* biofilms. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37914-3>

Solano-Doblado, L. G., Alamilla-Beltrán, L., & Jiménez-Martínez, C. (2018). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21.

Stegmayer, M. I., Fernandez, L. N., Alvarez, N. H., Olivella, L., Gutiérrez, H. F., Favaro, M. A., & Derita, M. G. (2021). Aceites esenciales provenientes de plantas nativas para el control

- de hongos fitopatógenos que afectan a frutales. *Fave. Sección ciencias agrarias*, 20(1), 317-329.
- They, T., Lynch, K. M., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2020). Isolation, characterisation and application of a new antifungal protein from broccoli seeds–New food preservative with great potential. *Food Control*, 117, 107356.
- Timung, R., Barik, C. R., Purohit, S., & Goud, V. V. (2016). Composition and anti-bacterial activity analysis of citronella oil obtained by hydrodistillation: Process optimization study. *Industrial Crops and Products*, 94, 178-188.
- Torlak, E. and Nizamlioglu, M. (2011). Antimicrobial effectiveness of chitosan-essential oil coated plastic films against foodborne pathogens. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 27(3), 235-248. <https://doi.org/10.1177/8756087911407391>
- Torres, P., Cruz, C. H., & Patiño, P. J. (2009). Índices de calidad de agua en fuentes superficiales utilizadas en la producción de agua para consumo humano: Una revisión crítica. *Revista Ingenierías Universidad de Medellín*, 8(15), 79-94.
- Trujillo, J. J. C., Gutiérrez, V. H., Leal, L. C. S., & Quintero, L. S. F. (2021). Alternativas de control biorracionales sobre *Phytophthora infestans*, fitopatógeno causante de la gota en papa. *REVISTA NOVA*, 19(36).
- Tsouti, C., Papadaskalopoulou, C., Konsta, A., Andrikopoulos, P., Panagiotopoulou, M., Papadaki, S., ... & Valta, K. (2023). Investigating the environmental benefits of novel films for the packaging of fresh tomatoes enriched with antimicrobial and antioxidant compounds through life cycle assessment. *Sustainability*, 15(10), 7838. <https://doi.org/10.3390/su15107838>

- Vaou, N., Stavropoulou, E., Voidarou, C., Tsakris, Z., Rozos, G., Tsigalou, C., & Bezirtzoglou, E. (2022). Interactions between Medical Plant-Derived Bioactive Compounds: Focus on Antimicrobial Combination Effects. *Antibiotics*.  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics11081014>
- Verma, n. (2025). exploring the potential of other natural sources for antimicrobial compounds: current research and future prospectives. *phytomolecules as a source for drug discovery: antimicrobials from medicinal plants*, 151.
- Viviana L. MACK-WEN G.<sup>1\*</sup>; Leidy B. RICO G.<sup>1</sup>; Juan C. ALARCÓN P.<sup>1,2</sup>; Jaime A.
- Zhou, A., Li, R., Mo, F., Ding, Y.-B., Li, R., Guo, X., Hu, K., & Li, M. (2022). Natural Product Citronellal can Significantly Disturb Chitin Synthesis and Cell Wall Integrity in *Magnaporthe oryzae*. *Journal of Fungi*, 8(12), 1310. <https://doi.org/10.3390/jof8121310>
- Ziani, K., Oses, J., Coma, V., & Maté, J. I. (2008). Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. *LWT-Food Science and Technology*, 41(10), 2159-2165.  
<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2007.11.023>