



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**ANÁLISIS ANTIMICROBIANO DE LOS ACEITES DE *Artemisia
absinthium* y *Borago officinalis* FRENTE A *Escherichia coli* Y
*Klebsiella pneumoniae***

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR:

PEDRO ANDRÉS RODRÍGUEZ LEMA

Riobamba-Ecuador

2023



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**ANÁLISIS ANTIMICROBIANO DE LOS ACEITES DE *Artemisia*
absinthium y *Borago officinalis* FRENTE A *Escherichia coli* Y
*Klebsiella pneumoniae***

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: PEDRO ANDRÉS RODRÍGUEZ LEMA

DIRECTORA: DRA. ADRIANA MONSERRATH MONGE MORENO

Riobamba-Ecuador

2023

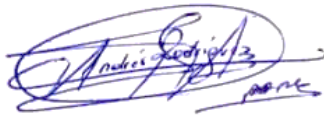
© 2023, **Pedro Andrés Rodríguez Lema**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Pedro Andrés Rodríguez Lema, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 1 de junio de 2023



Pedro Andrés Rodríguez Lema

060368434-1

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUIMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, **ANÁLISIS ANTIMICROBIANO DE LOS ACEITES DE *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* FRENTE A *Escherichia coli* Y *Klebsiella pneumoniae***, realizado por la señor: **PEDRO ANDRÉS RODRÍGUEZ LEMA**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

| | FIRMA | FECHA |
|---|--|--------------|
| Dra. Janneth María Gallegos Núñez, PhD PRESIDENTE DEL TRIBUNAL |  | 2023-06-01 |
| Dra. Adriana Monserrath Monge Moreno DIRECTORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR |  | 2023-06-01 |
| BQCL. Mishell Carolina Moreno Samaniego MSc. ASESOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR |  | 2023-06-01 |

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi esposa Cristina por su apoyo incondicional en este arduo camino. A mis padres Pedro y Rosario por enseñarme a luchar por mis sueños, siempre apoyarme y creer en mí. A mi hijo por ser ese motor y la luz que me ha guiado a culminar este logro.

Pedro

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres por su paciencia y su apoyo incondicional que me han permitido cumplir una meta y un sueño más, gracias por haberme inculcado que con esfuerzo y dedicación todo es posible. Gracias a mis docentes por haber compartido todos sus conocimientos y haber contribuido en mi formación personal y profesional.

Pedro

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| ÍNDICE DE TABLAS..... | xii |
| ÍNDICE DE ILUSTRACIONES | xiii |
| ÍNDICE DE ANEXOS | xiv |
| RESUMEN..... | xv |
| SUMMARY | Error! Bookmark not defined. |
| INTRODUCCIÓN | 1 |

CAPITULO I

| | | |
|--------|---|---|
| 1. | DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA | 3 |
| 1.1. | Planteamiento del problema | 3 |
| 1.2. | Justificación | 4 |
| 1.3. | Objetivos | 5 |
| 1.3.1. | <i>Objetivo general</i> | 5 |
| 1.3.2. | <i>Objetivos específicos</i> | 6 |

CAPÍTULO II

| | | |
|----------|--|----|
| 2. | MARCO TEÓRICO | 7 |
| 2.1. | Referencias teóricas | 7 |
| 2.1.1. | <i>Antecedentes de la investigación</i> | 7 |
| 2.1.2. | <i>Antimicrobianos</i> | 8 |
| 2.1.2.1. | <i>Resistencia antimicrobiana</i> | 8 |
| 2.1.3. | <i>Medicina tradicional en el Ecuador</i> | 8 |
| 2.1.3.1. | <i>Uso de plantas medicinales en Ecuador</i> | 9 |
| 2.1.4. | <i>Artemisia absinthium</i> | 10 |
| 2.1.4.1. | <i>Características botánicas</i> | 11 |
| 2.1.4.2. | <i>Clasificación taxonómica</i> | 11 |
| 2.1.4.3. | <i>Hábitat</i> | 12 |
| 2.1.4.4. | <i>Composición química</i> | 12 |
| 2.1.4.5. | <i>Usos farmacológicos</i> | 13 |
| 2.1.5. | <i>Borago officinalis</i> | 13 |
| 2.1.5.1. | <i>Características botánicas</i> | 14 |
| 2.1.5.2. | <i>Clasificación taxonómica</i> | 14 |

| | | |
|----------|--|----|
| 2.1.5.3. | <i>Hábitat</i> | 14 |
| 2.1.5.4. | <i>Composición química</i> | 14 |
| 2.1.5.5. | <i>Usos farmacológicos</i> | 15 |
| 2.1.6. | <i>Aceites esenciales</i> | 15 |
| 2.1.6.1. | <i>Clasificación de los aceites esenciales</i> | 16 |
| 2.1.6.2. | <i>Métodos de extracción de aceites esenciales</i> | 16 |
| 2.1.7. | <i>Cepas microbianas en estudio</i> | 17 |
| 2.1.7.1. | <i>Escherichia coli</i> | 17 |
| 2.1.7.2. | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 18 |

CAPITULO III

| | | |
|----------|---|----|
| 3. | MARCO METODOLÓGICO | 20 |
| 3.1. | Descripción de los procesos | 20 |
| 3.1.1. | <i>Hidrodestilación</i> | 20 |
| 3.1.2. | <i>Densidad</i> | 20 |
| 3.1.3. | <i>Índice de refracción</i> | 20 |
| 3.1.4. | <i>Método de difusión en disco (Kirby-Bauer)</i> | 20 |
| 3.1.5. | <i>Método de dilución</i> | 21 |
| 3.1.6. | <i>Concentración mínima inhibitoria (CMI)</i> | 21 |
| 3.1.7. | <i>Concentración mínima bactericida (CMB)</i> | 21 |
| 3.2. | Materiales, equipos y reactivos | 22 |
| 3.2.1. | <i>Materiales</i> | 22 |
| 3.2.1.1. | <i>Preparación de los aceites</i> | 22 |
| 3.2.1.2. | <i>Determinación de la densidad</i> | 22 |
| 3.2.1.3. | <i>Determinación del índice de refracción</i> | 22 |
| 3.2.1.4. | <i>Determinación de la actividad antimicrobiana</i> | 22 |
| 3.2.1.5. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria</i> | 23 |
| 3.2.1.6. | <i>Determinación de la concentración mínima bactericida</i> | 23 |
| 3.2.2. | <i>Equipos</i> | 23 |
| 3.2.2.1. | <i>Preparación de los aceites</i> | 23 |
| 3.2.2.2. | <i>Determinación de la densidad</i> | 23 |
| 3.2.2.3. | <i>Determinación del índice de refracción</i> | 23 |
| 3.2.2.4. | <i>Determinación de la actividad antimicrobiana</i> | 24 |
| 3.2.2.5. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria</i> | 24 |
| 3.2.2.6. | <i>Determinación de la concentración mínima bactericida</i> | 24 |
| 3.2.3. | <i>Reactivos</i> | 24 |

| | | |
|----------|---|----|
| 3.2.3.1. | <i>Preparación de los aceites</i> | 24 |
| 3.2.3.2. | <i>Determinación de la densidad</i> | 24 |
| 3.2.3.3. | <i>Determinación del índice de refracción</i> | 25 |
| 3.2.3.4. | <i>Determinación de la actividad antimicrobiana</i> | 25 |
| 3.2.3.5. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria</i> | 25 |
| 3.2.3.6. | <i>Determinación de la concentración mínima bactericida</i> | 25 |
| 3.2.4. | <i>Microorganismos</i> | 25 |
| 3.3. | Enfoque y alcance del trabajo | 25 |
| 3.3.1. | <i>Enfoque de la investigación</i> | 25 |
| 3.3.2. | <i>Alcance</i> | 26 |
| 3.4. | Tipo y diseño del trabajo | 26 |
| 3.5. | Métodos, técnicas e instrumentos de la investigación | 26 |
| 3.5.1. | <i>Extracción de los aceites esenciales</i> | 26 |
| 3.5.1.1. | <i>Método de hidrodestilación</i> | 26 |
| 3.5.1.2. | <i>Cálculo de la densidad de los aceites esenciales por método del picnómetro</i> | 27 |
| 3.5.1.3. | <i>Cálculo del rendimiento de la extracción de los aceites esenciales</i> | 27 |
| 3.5.1.4. | <i>Cálculo del índice de refacción de los aceites esenciales</i> | 28 |
| 3.5.2. | <i>Análisis antimicrobiano</i> | 28 |
| 3.5.2.1. | <i>Preparación del medio de cultivo</i> | 28 |
| 3.5.2.2. | <i>Procedimiento análisis antimicrobiano método de Kirby Bauer</i> | 29 |
| 3.5.3. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)</i> | 31 |
| 3.5.3.1. | <i>Procedimiento para la preparación del caldo nutritivo</i> | 31 |
| 3.5.3.2. | <i>Procedimiento para la determinación de la concentración mínima inhibitoria</i> | 31 |
| 3.5.4. | <i>Determinación concentración mínima bactericida (CMB)</i> | 31 |
| 3.5.4.1. | <i>Procedimiento para la preparación de agar nutritivo</i> | 31 |
| 3.5.4.2. | <i>Procedimiento para la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)</i> | 32 |
| 3.5.5. | <i>Procedimiento general</i> | 33 |

CAPITULO IV

| | | |
|--------|--|----|
| 4. | ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS | 34 |
| 4.1. | Obtención de los aceites esenciales | 34 |
| 4.2. | Características organolépticas | 35 |
| 4.2.1. | <i>Aceite esencial de Artemisia absinthium</i> | 35 |
| 4.2.2. | <i>Aceite esencial de Borago officinalis</i> | 35 |
| 4.3. | Características fisicoquímicas | 37 |

| | | |
|--------|--|----|
| 4.4. | Determinación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales mediante pruebas de sensibilidad por discos | 37 |
| 4.4.1. | <i>Actividad antimicrobiana que presentó el aceite esencial de Borago officinalis frente a la cepa de Escherichia coli</i> | 38 |
| 4.4.2. | <i>Determinación de la actividad antimicrobiana que presentó el aceite esencial de Borago officinalis frente a la cepa de Klebsiella pneumoniae</i> | 39 |
| 4.4.3. | <i>Actividad antimicrobiana que presentó el aceite esencial de Artemisia absinthium frente a la cepa de Escherichia coli</i> | 41 |
| 4.4.4. | <i>Actividad antimicrobiana que presentó el aceite esencial de Artemisia absinthium frente a la cepa de Klebsiella pneumoniae</i> | 42 |
| 4.4.5. | <i>Actividad antimicrobiana que presentó la mezcla de los aceites esenciales de Artemisia absinthium y Borago officinalis frente a la cepa de Escherichia coli</i> ... | 43 |
| 4.4.6. | <i>Actividad antimicrobiana que presentó la mezcla de los aceites esenciales de Artemisia absinthium y Borago officinalis frente a la cepa de Klebsiella pneumoniae</i> | 44 |
| 4.5. | Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Borago officinalis y Artemisia absinthium frente a la cepa de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae | 45 |
| 4.5.1. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Borago officinalis frente a la cepa de Escherichia coli</i> | 45 |
| 4.5.2. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Borago officinalis frente a la cepa de Klebsiella pneumoniae</i> | 46 |
| 4.5.3. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Artemisia absinthium frente a la cepa de Escherichia coli</i> | 47 |
| 4.5.4. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Artemisia absinthium frente a la cepa de Klebsiella pneumoniae</i> | 47 |
| 4.5.5. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria la mezcla de los aceites esenciales de Artemisia absinthium y Borago officinalis frente a la cepa de Escherichia coli</i> | 49 |
| 4.5.6. | <i>Determinación de la concentración mínima inhibitoria la mezcla de los aceites esenciales de Artemisia absinthium y Borago officinalis frente a la cepa de Klebsiella pneumoniae</i> | 50 |
| 4.6. | Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de Borago officinalis y Artemisia absinthium frente a la cepa de Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae | 51 |
| 4.6.1. | <i>Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de Borago officinalis frente a la cepa de Escherichia coli</i> | 51 |

| | | |
|--------|---|----|
| 4.6.2. | <i>Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de Borago officinalis frente a la cepa de Klebsiella pneumoniae</i> | 52 |
| 4.6.3. | <i>Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de Artemisia absinthium frente a la cepa de Escherichia coli</i> | 53 |
| 4.6.4. | <i>Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de Artemisia absinthium frente a la cepa de Klebsiella pneumoniae</i> | 53 |
| 4.6.5. | <i>Determinación de la concentración mínima bactericida de la mezcla de los aceites esenciales de Artemisia absinthium y Borago officinalis frente a la cepa de Escherichia coli</i> | 55 |
| 4.6.6. | <i>Determinación de la concentración mínima bactericida de la mezcla de los aceites esenciales de Artemisia absinthium y Borago officinalis frente a la cepa de Klebsiella pneumoniae</i> | 56 |

CAPITULO V

| | | |
|------|---|----|
| 5. | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 58 |
| 5.1. | Conclusiones | 58 |
| 5.2. | Recomendaciones | 60 |

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|--------------------|--|----|
| Tabla 3-1: | Microorganismo usados..... | 25 |
| Tabla 4-1: | Tiempo y volumen de la extracción de los aceites | 34 |
| Tabla 4-2: | Características organolépticas de <i>Artemisia absinthium</i> | 35 |
| Tabla 4-3: | Características organolépticas de <i>Borago officinalis</i> | 35 |
| Tabla 4-4: | Características fisicoquímicas de los aceites esenciales | 36 |
| Tabla 4-5: | Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por el aceite esencial de <i>Borago officinalis</i> | 38 |
| Tabla 4-6: | Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por el aceite esencial de <i>Borago officinalis</i> | 39 |
| Tabla 4-7: | Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por el aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> | 41 |
| Tabla 4-8: | Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por el aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> | 42 |
| Tabla 4-9: | Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por la mezcla de los aceites esenciales de <i>Artemisia absinthium</i> y <i>Borago officinalis</i> | 43 |
| Tabla 4-10: | Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por la mezcla de los aceites esenciales de <i>Artemisia absinthium</i> y <i>Borago officinalis</i> | 44 |
| Tabla 4-11: | Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de <i>Borago officinalis</i> | 45 |
| Tabla 4-12: | Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de <i>Borago officinalis</i> | 46 |
| Tabla 4-13: | Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> | 47 |
| Tabla 4-14: | Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> | 48 |
| Tabla 4-15: | Concentración mínima inhibitoria de la mezcla de los aceites esenciales de g y <i>Borago officinalis</i> | 49 |
| Tabla 4-16: | Concentración mínima inhibitoria de la mezcla de los aceites esenciales de <i>Artemisia absinthium</i> y <i>Borago officinalis</i> | 50 |
| Tabla 4-17: | Concentración mínima bactericida del aceite esencial de <i>Borago officinalis</i> | 51 |
| Tabla 4-18: | Concentración mínima bactericida del aceite esencial de <i>Borago officinalis</i> | 52 |
| Tabla 4-19: | Concentración mínima bactericida del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> | 53 |
| Tabla 4-20: | Concentración mínima bactericida del aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> | 53 |
| Tabla 4-21: | Concentración mínima bactericida de la mezcla de los aceites esenciales de <i>Artemisia absinthium</i> y <i>Borago officinalis</i> | 55 |
| Tabla 4-22: | Concentración mínima bactericida de la mezcla de los aceites esenciales de <i>Artemisia absinthium</i> y <i>Borago officinalis</i> | 56 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

| | | |
|-------------------------|--|----|
| Ilustración 3-1: | Descripción del producto..... | 29 |
| Ilustración 3-2: | Procedimiento general de las actividades realizadas para el desarrollo de la tesis..... | 33 |
| Ilustración 4-1: | Halos de inhibición formados por el efecto antimicrobiano que presentan los aceites esenciales | 37 |
| Ilustración 4-2: | Halos de inhibición del aceite esencial de <i>Borago officinalis</i> frente a <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 39 |

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: EXTRACCION DE LOS ACEITES ESENCIALES.

ANEXO B: ACEITES ESENCIALES.

ANEXO C: ANALISIS ANTIMICROBIANO.

ANEXO D: ESCALA Mc FARLAND.

ANEXO E: PLACAS SEMBRADAS.

ANEXO F: ANALISIS DEL CMI Y CMB.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antimicrobiana de los aceites de *Artemisia absinthium* (ajenjo) y *Borago officinalis* (borraja) frente a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Tuvo un enfoque cuantitativo y diseño experimental ya que existió una manipulación de las concentraciones de los aceites. Para la obtención de los aceites esenciales primeramente se procedió a la recolección de las plantas y su acondicionamiento, la extracción se realizó mediante el método de hidrodestilación, a continuación se realizaron pruebas de control de calidad como densidad, índice de refracción, porcentaje de rendimiento, características fisicoquímicas y organolépticas; para determinar el efecto antimicrobiano *in vitro* se lo llevó a cabo mediante el método de difusión en disco; mientras que para la determinación de la CMI y CMB que presentan las cepas se lo realizó por el método de dilución. En los resultados se evidenció en cuanto al efecto antimicrobiano que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* a una concentración de 5000 ppm presentaron halos de inhibición frente a las dos cepas; en cuanto a la CMI el aceite de *Borago officinalis* fue de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ y el aceite de *Artemisia absinthium* fue de 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ frente a ambas cepas, por otro lado el aceite de *Borago officinalis* presentó una CMB de 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ frente a las dos cepas y el aceite de *Artemisia absinthium* presentó una CMB de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ en ambos casos. En conclusión, los aceites esenciales obtenidos cumplen con los parámetros de calidad, de acuerdo a la escala de Duraffourd, se pudo determinar que ambos aceites son sensibles frente a las dos cepas. Se recomiendan realizar más estudios para poder identificar cuáles son los principios activos que contienen los aceites para que produzcan este efecto y probar el efecto de estos aceites frente a cepas gram positivas.

Palabras clave: <AJENJO (*Artemisia absinthium*)>, <BORRAJA (*Borago officinalis*)>, <*Escherichia coli*>, <*Klebsiella pneumoniae*>, <HIDRODESTILACIÓN>, <EFECTO ANTIMICROBIANO>, <Kirby-Bauer>, <CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA>, <CONCENTRACIÓN MÍNIMA BACTERICIDA>.


1596-DBRA-UPT-2023



SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of *Artemisia absinthium* (wormwood) and *Borago officinalis* (borage) oils against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. It had a quantitative approach and experimental design since there was a manipulation of the concentrations of the oils. To obtain the essential oils, the plants were first collected and conditioned, the extraction was made by the hydro distillation method, then quality control tests were performed such as density, refractive index, yield percentage, physicochemical and organoleptic characteristics; to determine the in vitro antimicrobial effect it was made by the disc diffusion method; while for the determination of the MIC and CMB presented by the strains, it was made by the dilution method. The results showed that the antimicrobial effect of the essential oil of *Artemisia absinthium* and *Borago officinalis* at a concentration of 5000 ppm presented inhibition halos against the two strains; as for the MIC the *Borago officinalis* oil was 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ and the *Artemisia absinthium* oil was 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ against both strains, on the other hand the *Borago officinalis* oil presented a CMB of 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ against the two strains and the *Artemisia absinthium* oil presented a CMB of 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ in both cases. In conclusion, the essential oils obtained meet the quality parameters, according to the Duraffourd scale, it could be determined that both oils are sensitive against the two strains. Further studies are recommended in order to identify which are the active principles contained in the oils to produce this effect and to test the effect of these oils against gram-positive strains.

Keywords: <WORMWOOD (*Artemisia absinthium*)>, <BORAGE (*Borago officinalis*)>, <*Escherichia coli*>, <*Klebsiella pneumoniae*>, <HYDRODESTILLATION>, <IN VITRO>, <ANTIMICROBIAL EFFECT>, <Kirby-Bauer>, <MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION>, <MINIMUM BACTERICIDE CONCENTRATION>.



Edgar Mejías Jaramillo Moyano
0603497397

INTRODUCCIÓN

Actualmente, el uso de plantas para el tratamiento de enfermedades infecciosas constituye un gran desafío en la medicina moderna, especialmente en los casos en la que los medicamentos utilizados frecuentemente han dejado de ser eficaces. En Ecuador, el uso de plantas medicinales está estrechamente relacionado con las tradiciones ancestrales, el país cuenta con una amplia variedad de plantas medicinales a nivel nacional las cuales contienen metabolitos secundarios que poseen una actividad biológica. Pero en la mayoría de los casos las plantas que crecen en la región no han sido investigadas en su totalidad, es por ello que actualmente no existen muchos estudios que comprueben los beneficios terapéuticos que estas plantas pueden brindarnos.

El advenimiento de los antibióticos ha cambiado completamente el tratamiento de las distintas enfermedades infecciosas logrando así mejorar el estilo de vida de las personas, sin embargo, a raíz de esto ha surgido una nueva problemática denominada resistencia antimicrobiana debido al uso irracional de este grupo de medicamentos.

Según la Organización Mundial de la Salud, la resistencia a los antibióticos se desarrolla cuando las bacterias mutan por el uso inadecuado de estos medicamentos. Son las bacterias que se encuentran en el huésped que es el ser humano las que se vuelven resistentes a los antibióticos. Estas bacterias resistentes a los medicamentos pueden causar infecciones en el ser humano, y estas son muchos más difíciles de tratar con respecto a las infecciones provocadas por las bacterias no resistentes. La resistencia a este grupo de fármacos provoca que se incrementen los gastos médicos, que se prolonguen las estancias hospitalarias y que aumente la mortalidad (OMS, 2020, p.1).

Las bacterias Gram negativas como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* son los microorganismos más comunes que causan infecciones del tracto urinario (ITU). Estas patologías se encuentran entre las enfermedades infecciosas más comunes que afectan a ambos sexos y es considerado como una problemática importante a nivel del sistema de salud pública con una alta carga de morbilidad y altos costos sanitarios especialmente cuando el cuadro se complica. Las visitas al médico por infecciones urinarias representan entre el 1% y 6% de todas las visitas médicas en los Estados Unidos (Solis et al., 2022, p.38).

Las infecciones del tracto urinario (ITU) provocadas por bacterias Gram negativas son las segundas infecciones más frecuentes en la práctica médica comunitaria. Cada año, aproximadamente 150 millones de personas son diagnosticadas con una ITU, como consecuencia se tiene una gran cantidad de uso de antimicrobianos. Hasta el 15% de los

antibióticos prescritos en la comunidad están asociados con infecciones del tracto urinario (ITU). De acuerdo a estos datos, el riesgo de resistencia a los antibióticos está aumentando (Solis et al., 2022, p.38).

Debido a la gran demanda en cuanto al uso de antibióticos para el tratamiento de las UTI, la resistencia a los antibióticos, especialmente en los principales patógenos del tracto urinario como *E. coli* ha incrementado significativamente a nivel mundial. Son varios los factores que han contribuido a este aumento, por lo que es muy importante realizar un monitoreo de la resistencia bacteriana de estos uropatógenos (Solis et al., 2022, p.39).

Esta investigación tiene como finalidad comprobar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* (Ajenjo) y *Borago officinalis* (Borraja) frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, para de esta manera obtener datos e información que ayuden al campo investigativo en cuanto a la búsqueda de nuevas alternativas naturales y de esta manera combatir las enfermedades infecciosas.

CAPITULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

Las bacterias han estado presentes en nuestro planeta desde el comienzo de la vida; las cuales han evolucionado y se han adaptado a él desde nuestros antepasados. El tratamiento de las enfermedades infecciosas ha ido evolucionado significativamente en la historia humana, tal es el caso de los antibióticos con el que se evidenció un gran avance (Fernández et al., 2021, p.478).

Desde la antigüedad, junto con la aparición del hombre, las infecciones fueron una de las enfermedades que más le afectaban, como consecuencia se recurría a la búsqueda de diferentes tipos de remedios, sobre todo los que eran a base de plantas, minerales y algún compuesto animal. A través del método de ensayo y error, pudieron encontrar sustancias con propiedades beneficiosas, y el descubrimiento y uso del fuego condujo al desarrollo de las primeras preparaciones farmacéuticas (Fernández et al., 2021, p.478).

Los antibióticos son una clase grande y diversa de medicamentos cuyo efecto farmacológico en el tratamiento de las enfermedades infecciosas ha impedido en gran medida que se conviertan en una de las principales causas de muerte en los países desarrollados (Del Arco, 2014, p.30).

La era de los antibióticos ha transformado el campo de las enfermedades infecciosas, dejando atrás la era anterior a los antibióticos. Desafortunadamente, con el desarrollo de la producción de antimicrobianos, la resistencia de bacterias, hongos, parásitos e incluso virus lamentablemente ha aumentado en gran medida a los diferentes grupos de antibióticos (Quiñones, 2017, p.3).

La resistencia a los antibióticos se puede definir como la capacidad que tiene un microorganismo para poder resistir la acción de los agentes antimicrobianos, es un problema de salud pública creciente a nivel mundial. La resistencia puede surgir como resultado de la selección natural, como producto de mutaciones aleatorias, o puede ser inducida por la presión selectiva sobre una población (Calderón & Aguilar, 2016: p.758).

Según la Organización Mundial de la Salud y el Foro Económico Mundial, la resistencia a los antibióticos es uno de los mayores problemas de salud pública a nivel mundial porque dificulta nuestra capacidad de poder controlar las enfermedades infecciosas, aumenta la morbilidad y la

mortalidad, reduce la eficacia del tratamiento farmacológico y amenaza el progreso y provoca un retroceso de la medicina moderna, permite que los microorganismos infecciosos se propaguen de una persona a otra, aumenta los costos de atención médica y amenaza la seguridad sanitaria perjudicando el comercio y la economía (Calderón & Aguilar, 2016: p.758).

En Ecuador, las plantas han sido muy utilizadas desde la antigüedad para tratar enfermedades y síntomas asociados a ellas; son de gran importancia y en los últimos tiempos ha aumentado uso exponencialmente, ya sea como alternativa al consumo de medicamentos o como tratamiento primario para padecimientos de salud.

El interés por investigar qué metabolitos pueden actuar como agentes terapéuticos ha dado lugar a investigaciones relacionadas con el proceso de identificación y cuantificación de estos metabolitos. El análisis de estos compuestos activos permitió relacionarlos con varias posibles actividades farmacológicas que puede tener una planta, entre ellas las más importante la antimicrobiana (Flores, 2021, p.3).

Los aceites esenciales se conocen desde la antigüedad por sus propiedades antimicrobianas naturales; se ha demostrado que muchas plantas son efectivos en diversas aplicaciones, como el control del crecimiento y la reducción de la supervivencia microbiana (Bermúdez et al., 2019: pp.148-149).

Aquí surge el interés por conocer la actividad antimicrobiana que poseen los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* (Ajenjo) y *Borago officinalis* (Borraja) frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

1.2. Justificación

Durante miles de años, las personas han usado plantas en su forma natural para tratar enfermedades o desarrollar nuevos medicamentos respaldados por investigaciones farmacológicas. Actualmente, gran parte de los medicamentos y sus derivados provienen de las plantas. Los productos naturales han tenido un impacto significativo en la medicina humana debido al creciente interés en el uso de productos herbales. Los productos de plantas medicinales son menos tóxicos y tiene una alta eficacia en comparación con los medicamentos sintéticos (González et al., 2020: p.3).

El Ecuador cuenta con una gran variedad de plantas medicinales que los pueblos aborígenes utilizan con fines medicinales. Estas plantas se han utilizado de forma empírica por siglos y

actualmente están llamando la atención de los investigadores con el fin de descubrir los principios activos que justifican su uso terapéutico.

La resistencia a los antibióticos es un problema global que ha ido aumentando debido al mal uso de antibióticos, antifúngicos y compuestos desinfectantes, por lo que las plantas y sus extractos se han convertido en alternativa muy utilizada debido a sus compuestos activos y diferentes concentraciones (Daza, 2020, p.10).

La planta *Artemisia absinthium* más comúnmente conocida como “Ajenjo”, es una planta utilizada en la medicina tradicional por sus innumerables propiedades farmacológicas, en gran parte debido a sus aceites esenciales, los cuales podrían ser usados como alternativa para la prevención y tratamiento de infecciones bacterianas (Barrios & Quispe, 2018: p.5).

Según bibliografía, la planta de *Borago officinalis* estimula la eliminación de líquidos del organismo, por lo que se utiliza para el tratamiento enfermedades como infecciones del tracto urinario, nefritis y cistitis, además previene la formación de cálculos renales. Por lo tanto, esta planta representa una alternativa para el tratamiento de infecciones microbianas (Alejo & Cántaro, 2020: p.6).

Los aceites esenciales y sus constituyentes químicos tienen efectos beneficiosos sobre la salud humana, especialmente desde que en los últimos años se ha visto evidencia de su potencial antioxidante y antimicrobiano, esta última propiedad contra diversos patógenos bacterianos, fúngicos y virales. La preocupación por el control de las enfermedades bacterianas impulsa la búsqueda de nuevos productos terapéuticos (Jiménez et al., 2022: p.401).

Este trabajo experimental tiene como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana que poseen las plantas de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* con la finalidad de generar un aporte significativo a futuras investigaciones.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antimicrobiana de los aceites de *Artemisia absinthium* (ajenjo) y *Borago officinalis* (borraja) frente a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

1.3.2. Objetivos específicos

- Obtener los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* (ajenjo) y *Borago officinalis* (borraja) mediante el método de hidrodestilación.
- Evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* de los aceites esenciales a diferentes concentraciones mediante la formación del halo de inhibición.
- Determinar la concentración mínima inhibitoria y concentración mínima bactericida que presentan las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* a los aceites de *Artemisia absinthium* (ajenjo) y *Borago officinalis* (borraja).

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Referencias teóricas

2.1.1. Antecedentes de la investigación

En una investigación realizada por (Cerón, 2018, p.14) donde se obtuvieron extractos (hidroalcohólico y acuoso) de la planta *Artemisia Absinthium* a concentraciones del 15% y 30% con la finalidad de determinar su efecto antibacteriano frente a cepas de *Streptococcus mutans*, los cuales se aplicaron sobre cajas de Petri con cultivos de cepas de *Streptococcus mutans* discos empapados de los extractos a las diferentes concentraciones, clorhexidina al 0,12% como control positivo y agua destilada como control negativo, las cuales fueron incubados durante 48 horas en jarra GasPak a una temperatura de 37°C y una atmosfera de CO₂ al 5%, posteriormente se realizó la lectura de los halos de inhibición siguiendo los parámetros de NCCLS, para poder desarrollar un análisis comparativo y estadístico, aplicando el análisis de Varianza (ANOVA) y la prueba Tukey, con un nivel de confianza del 95%. Donde se obtuvo como resultado que el extracto acuoso de ajeno se mantuvo inalterable sin crecimiento ni variación en 6 mm de halos de inhibición, mientras que el extracto hidroalcohólico al 15% presentó un promedio de 7.9 mm y al 30% de 12.3 mm, lo que permitió concluir que los extractos acuosos e hidroalcohólicos de ajeno (*Artemisia absinthium L.*) al 15% y 30% no tiene un efecto antibacteriano contra *Streptococcus mutans*, de acuerdo a los criterios establecidos por NCCLS.

Por otro lado, en un estudio realizado por (Alejo & Cántaro, 2020: p.6) reveló que el extracto etanólico obtenido de las hojas de *Borago officinalis L* (Borraja) contiene compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, esteroides, alcaloides y azúcares reductores. El ensayo microbiológico realizado por el método de Kirby-Bauer demostró que los extractos etanólicos de las hojas de *Borago officinalis L.* (Borraja) al 90%, 50% y 25 %, la dimetilsulfoxido y la amikacina, presentaron halos de inhibición de 11.23, 8.22, 0, 0 y 26.25 mm respectivamente con respecto al crecimiento de la cepa bacteriana *Escherichia coli* ATCC 25922. Finalmente, en este trabajo se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis L.* (Borraja) a las concentraciones de 50% y 90% presentan efecto antibacteriano frente a una cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

2.1.2. Antimicrobianos

El término antimicrobiano define a los productos capaces de inhibir (bacteriostáticos, fungistáticos, etc.) o matar (bactericidas, fungicidas, etc.) a cualquier tipo de microorganismo. El efecto que produzca el antimicrobiano dependerá principalmente del tipo de fármaco que se utilice, puesto que tienen diferentes espectros de acción de acuerdo con el grupo que pertenezca (Virga & Aguzzi, 2020: pp.4-5).

2.1.2.1. Resistencia antimicrobiana

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un proceso natural definido como la capacidad de los microorganismos (bacterias, virus, parásitos, hongos) de neutralizar y/o resistir la acción de los agentes antimicrobianos (antibióticos, antivirales, antiparasitarios, antifúngicos). Esta resistencia puede ser natural o adquirida. La resistencia natural es característica de cada microorganismo, mientras que, en el caso de la adquirida parece ser el resultado de un mecanismo de defensa desarrollado por el microorganismo a través de procesos bioquímicos previos a la exposición al agente antimicrobiano. Este último mecanismo es preocupante porque ayudaría en la propagación de la resistencia y contribuiría a la aparición de brotes a nivel hospitalario. Uno de los factores que contribuyen a la selección y propagación de los mecanismos de resistencia es el uso inapropiado e indiscriminado de agentes antibacterianos junto con un control deficiente de las infecciones intrahospitalarias. Esto reduce las opciones de tratamiento y aumenta la estancia hospitalaria; factores claves para que la RAM se considere un problema, debido al incremento de los costos a nivel del sistema de salud pública y sanidad animal que amenazan su sostenibilidad (MSP, 2019, p.1).

2.1.3. Medicina tradicional en el Ecuador

Según la constitución vigente del Ecuador, aprobada en 2008, menciona que el Ecuador es un país multilingüe, pluricultural y multiétnico, es decir, un país con una diversidad étnica y cultural diferenciada, el cual tiene un territorio de 256.327 km², conviven catorce nacionalidades y 27 pueblos indígenas. El Ecuador está lleno de riqueza cultural viva, tanto tangible como intangible, según el Instituto Nacional de Patrimonio Cultural (INPC) las costumbres y tradiciones, así como la cultura viva que han logrado trascender por su antigüedad y la medicina ancestral son consideradas como patrimonio cultural intangible (Gaucho, 2013, p.17).

2.1.3.1. Uso de plantas medicinales en Ecuador

Se consideran a los conocimientos ancestrales a todos los conocimientos que pertenecen a los pueblos y sociedades indígenas y se transmiten de generación en generación principalmente de forma oral, de padres a hijos la cual se la conoce como transmisión vertical o a través de personas mayores o “sabias” conocido como transmisión oblicua, en la dinámica de convivencia comunitaria propia de nuestra población indígena (Quintero, 2020, p.18).

Estos saberes ancestrales comprenden una gran variedad de aspectos del conocimiento y la técnica, desde el lenguaje hasta la gastronomía, desde las matemáticas hasta la artesanía, pasando por la medicina, la arquitectura, la silvicultura, los métodos de conservación del ambiente y el microclima, la producción y la alimentación, la agricultura y el riego, el transporte y la comunicación (Sarauz, 2021, p.73).

El conocimiento tradicional de los pueblos indígenas y las comunidades locales está relacionado con el uso y aplicación de las plantas y ha jugado un papel importante en la economía global. La producción agrícola y el uso de plantas como alternativas naturales para el tratamiento de enfermedades se han convertido en un eje importante del desarrollo económico en las zonas rurales, y su contribución al desarrollo sostenible es relevante (Sarauz, 2021, p.73).

Las plantas son un recurso natural importante para la investigación y el desarrollo de nuevos principios activos y medicinales, según el Catálogo de plantas Vasculares elaborado en colaboración con varias instituciones a nivel nacional (del Jardín Botánico de Missouri, el Herbario QCA y la Pontificia Universidad Católica del Ecuador), Ecuador alberga alrededor de 18500 especies de plantas vasculares y cerca de 5700 especies endémicas, lo que lo convierte en el quinto país más diverso del continente americano (Sarauz, 2021, p.74).

Las prácticas ancestrales tales como el uso medicinal de la biodiversidad son de suma importancia; ya que estas prácticas incluyen varios componentes como la salud humana, el cuidado del medio ambiente y la relación espiritual entre el hombre y la naturaleza (Sarauz, 2021, p.74).

Actualmente, la parte espiritual ha sido olvidada, el hombre se ha desconectado de la naturaleza, y con la aparición de nuevas enfermedades, se ha visto la necesidad de salvar los conocimientos que ayuden a reconectar al hombre tanto en el ámbito natural y espiritual de su entorno (Sarauz, 2021, p.74).

En los últimos años ha ido creciendo el interés por la medicina tradicional, dentro de esta la medicina herbaria, la cual ha generado numerosos estudios, divulgados en prestigiosas publicaciones. Sin embargo, los profesionales de la salud en pocas ocasiones utilizan las plantas medicinales, ya que su tratamiento se basa íntegramente en medicamentos sintéticos, inclusive cuando se trata de problemas de salud diagnosticados como dolencias leves (Gallegos, 2016, p.328).

El acceso a los medicamentos para la población rural es limitado debido a varias razones, como el traslado a una farmacia, los altos costos, las tradiciones, difícil acceso a los centros de salud, entre otras más, como consecuencia la población siempre opta por el uso de remedios herbales que se encuentran a su alcance (Gallegos, 2016, p.328).

De igual manera, las experiencias ancestrales recolectadas a lo largo del tiempo, su disponibilidad y bajos costos, convierten a la fitoterapia en una alternativa importante en la atención primaria de la salud, hechos que han sostenido que estas prácticas se los realicen hasta la actualidad (Gallegos, 2016, p.328).

En Ecuador se creó como política nacional el fortalecer y consolidar la salud intercultural, integrando la medicina ancestral y alternativa al Sistema Nacional de Salud, entre otras cosas busca diseñar y aplicar protocolos para facilitar la introducción progresiva de la medicina ancestral y alternativa, con visión holística, en los servicios de salud tanto públicos y privados (Gallegos, 2016, p.328).

2.1.4. *Artemisia absinthium*

Artemisia absinthium es una planta procedente de la República Checa, especialmente de los Carpato, una cordillera que recorre Europa del Este, esta planta es la clave para la elaboración de la bebida llamada Absinth, Palirna U Zeleneho Stromu o Hada Verde, famosa entre los genios impresionistas y los escritores románticos, ya que los antiguos griegos dedicaban dicha planta a la diosa de la fecundidad, Artemisa, por las propiedades afrodisíacas que posee (Cerón, 2018, p.1).

El principal principio activo que se encuentra presente en el ajenjo es la tujona o tujona, es un componente que se asocia con la acción convulsivante y analéptica. El aceite esencial de esta planta contiene gran cantidad de alfa, beta-tujona y tujol, alfa-bisabolol, beta-curcumeno, cineol, espatulenol, felandreno, linalol; flavonoides, ácido caféico y otros fenolcarboxílicos; lactonas sesquiterpénicas: absintina, artabsina, matricina, anabsintina que representan los principios amargos; taninos y sales de potasio (González & Trelles, 2007: pp.70-71).

2.1.4.1. Características botánicas

Es un arbusto perenne de 0.5 a 1 m de altura, ramificación alterna y apretada hacia el ápice. Tiene un color blanquecino debido al vello canoso y espeso que recubren los tallos y hojas. Se caracteriza por tener hojas alternas ligeramente lanceoladas, inflorescencias en racimos terminales amarillos con flores pequeñas en forma de mariposa. Es una planta muy aromática y sus hojas tienen un sabor amargo (González & Trelles, 2007: pp.70-71).

Los tallos brotan de un rizoma leñoso y son herbáceos ramificados; son leñosos, rollizos y cuando llegan a la temporada de florecer se endurecen. Las ramas son delgadas, finas y flexibles (González & Trelles, 2007: pp.70-71).

Pose hojas pecioladas, alternas, pubescentes en haz y envés, dándole una textura sedosa. Las hojas inferiores son pinnaticompuestas y las superiores son simples alternas pinnadas, tienen un contorno redondeado, aunque están profundamente divididas en segmentos que llegan hasta la vena principal. Estos segmentos se dividen nuevamente en gajos prolongados y obtusos. Las hojas más altas contienen las sumidades floridas, quedando indivisas, y por debajo de ellas se encuentran otras que no tienen más de 3 o 5 gajos (González & Trelles 2007: pp.70-71).

Sus flores están agrupadas en cabezuelas de forma de escudilla hemisférica plana por arriba de 3 a 5 mm de diámetro y de color amarillo, pudiéndose contar de 30 a 40 flores en cada una de ellas. Las cabezuelas, cabizbajas, forman en conjunto grandes panículas en el extremo del tallo las flores (González & Trelles 2007: pp.70-71).

2.1.4.2. Clasificación taxonómica

Reino: Plantae.

Subreino: Tracheobionta.

Superdivisión: Spermatophyta.

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Asteridae.

Familia: Asteraceae.

Género: *Artemisia* L.

Especie: *Artemisia absinthium* L (González & Trelles, 2007: p.69).

2.1.4.3. Hábitat

Crece sobre suelos secos, nitrogenados, removidos y en baldíos y cunetas, en herbazales nitrófilos vivaces de origen antrópico, especialmente en zonas de montaña; cultivada a menudo en huertas. 800-2500 m. Florece entre los meses julio a septiembre. Se distribuye por Europa, oeste de Asia y en ciertos lugares del norte de África. En España en la mitad septentrional y oriental (Pardo et al., 2014: p.118).

2.1.4.4. Composición química

En *Artemisia absinthium* se podido identificar numerosos compuestos químicos de naturaleza variada: poliacetilenos, flavonoides (artemisetin, que tiene actividad antiinflamatoria, antitumoral y antiproliferativa), lignanos tetrahidrofuránicos (como el epiyangambin y sesartemin que reducen la actividad locomotora espontánea y la agresividad), cumarinas (scopoletina y umbeliferona, con actividad alelopática, identificadas en infusiones de ajeno), oligosacáridos, siendo los compuestos químicos más importantes las lactonas sesquiterpénicas y los compuestos terpénicos que forman el aceite esencial (Aguilar, 2016, p.6).

Las lactonas sesquiterpénicas, le dan al ajeno su característico sabor amargo, además por su utilidad quimiotaxonómica, son importantes estos compuestos en la planta por sus propiedades fungicidas, herbicidas, antimicrobianas e insecticidas, y actualmente se investiga ya que puede ser una posible fuente de nuevos productos fitosanitarios (Aguilar, 2016, p.6).

Unas de las más importantes son la absintina (se encuentra en una proporción de $\cong 0'2\%$, y puede detectarse a una concentración de 14'5 mg/litro) y la artabsina; pero también se encuentran presentes otras lactonas consideradas como menos relevantes como la ketopelenolide, anabsina y anabsintina (Aguilar, 2016, p.7).

El aceite esencial de las sumidades floridas se encuentra en una proporción de 0'2-1'5%, con un color que va de verde oscuro a marrón, o azul. El principal componente del aceite esencial de ajeno es la tuyona (40- 90% del aceite esencial), que es un monoterpeno bicíclico el cual es el responsable de producir la actividad y los efectos tóxicos sobre el Sistema Nervioso Central (SNC) (Aguilar, 2016, p.7).

La tuyona presenta dos isómeros α y β , de acuerdo con la disposición química del metilo en el carbono 4 (Aguilar, 2016, p.7).

La concentración de β -tuyona suele ser por lo general superior a la de α -tuyona (un 70-90% del contenido de tuyona total corresponde a β -tuyona) (Aguilar, 2016, p.7).

Además de la tuyona, el aceite esencial de esta planta también se lo asocia con otros compuestos terpénicos, tales como: acetato de sabinilo, cis-epoxiocimeno, cis-crisantenol, acetato de cis-crisantenilo, el acetato de bornilo, alcanfor y el 1.8-cineol, así como otros monoterpenos y sesquiterpenos (Aguilar, 2016, p.7).

Debido a la variedad química de *Artemisia absinthium*, la composición química del aceite esencial ha permitido dar lugar a la definición de varios quimiotipos, que varían según la ubicación de la especie; la tuyona no está presente en todos los quimiotipos de esta especie, por lo que sería interesante cultivar quimiotipos que no contengan la sustancia para poder elaborar absenta sin ese componente (Aguilar, 2016, p.7).

2.1.4.5. Usos farmacológicos

Desde el punto de vista farmacológico, el ajenjo tiene un efecto digestivo, actuando como tónico estomacal, carminativas, aperitivas, expectorantes, antibacterianas y antihelmíntico. También posee propiedades diuréticas debido a la presencia de altas concentraciones de sales de potasio.

Se encuentra indicada en amenorrea, dismenorrea, anorexia, meteorismo, bronquitis, disquinesia biliar y como uso externo se lo utiliza para curar heridas o llagas. La planta tiene también propiedades vermífugas y emenagogas. También es un buen repelente contra las abejas, cuando se manipulan colmenas o cuando se quiere evitar la formación de estas en lugares inadecuados (Llorens et al, 2008: pp.66-67).

Otros usos del *Artemisia absinthium* incluye su uso como especia o en la elaboración de bebidas alcohólicas amargas como los vermouth o el licor conocido como absenta. Específicamente, la elaboración de esta bebida alcohólica con plantas que contienen una cetona terpénica denominada tuyona, da lugar a una conocida problemática relacionada con su obtención y consumo (Llorens et al, 2008: pp.66-67).

2.1.5. *Borago officinalis*

Borago officinalis que pertenece a la familia *Boraginaceae* se la conoce como burraja, bourrache, bugloss y borraja, esta última denominación es la más común. Según algunos

historiadores, el nombre borraja proviene del latín borra, que significa “pelo”, debido a que la plana está cubierta por una cantidad abundante de pelillos. Otros afirman, que el nombre de la planta proviene del árabe *abu rash* que significa “padre del sudor”, debido a las propiedades diaforéticas de las flores de la planta (Alejo & Cántaro, 2020: p.14).

2.1.5.1. Características botánicas

Es una hierba erecta anual de 20 a 50 cm de altura, de tallo y hojas cubierto de pelos finos y suaves de color blancos. Las hojas son anchas, aovadas, basales y dentadas. Las flores son en forma de campanas de color azul-violeta claro, se agrupan en racimos terminales que cuelgan hacia el suelo. El tallo verde es muy turgente y presenta matices morados. El fruto es una drupa (Vit, 2002, p.11).

2.1.5.2. Clasificación taxonómica

Familia: Boraginaceae.

Género: *Borago*.

Nombre Científico: *Borago officinalis* L.

Nombres Comunes: lengua de buey, borracha, borrachuela, borraja, buglosa vulgar, corrago, flores cordiales, forrajás, lengua de buey, pulmonar, árnica (Medina, 2015, p.24).

2.1.5.3. Hábitat

Indiferente edáfica, se encuentra frecuentemente en medios arvenses y ruderales, ubicados hasta una altura de 900 m sobre el nivel del mar. Florece en los meses de enero a julio. Habita en las regiones mediterránea y macaronésica, así como en el sudoeste de Asia (Menéndez et al., 2018: p.100).

2.1.5.4. Composición química

Borago officinalis es una planta anual utilizada con fines medicinales y culinarios, pero se cultiva comercialmente por su aceite de la semilla. Este aceite esencial es rico en ácido gamma-linolénico (26% - 38%) que se utiliza como complemento dietético. Además de este aceite de semilla, también contiene una gran cantidad de ácidos grasos como el ácido linoleico (35% - 38%), ácido oleico (16% - 20%), ácido palmítico (10% - 11%), ácido esteárico (3.5% - 4.5 %), ácido eicosanoico (3.5% - 5.5%) y ácido erúrico (1.5% - 3.5%) (Alejo & Cántaro, 2020: p.14).

También contiene un alto contenido en mucílagos neutros (30%), hidrolizables en galactosa, glucosa y arabinosa que son los responsables de la actividad terapéutica; además contiene taninos, vitamina C, ácidos orgánicos que son la alantoína, azúcares y aceites esenciales. Además, es rica en minerales, especialmente el potasio (Alejo & Cántaro, 2020: pp.12-14).

2.1.5.5. Usos farmacológicos

La planta *Borago officinalis* tiene propiedades fenólicas y astringentes; además, posee propiedades analgésicas y antiinflamatorias. Las hojas crudas obtenidas de la borraja se utilizan como vasodilatadores, anticonvulsivantes, broncodilatadores, también tienen propiedades cardiodepresora. El aceite de la semilla se usa para el tratamiento de la trombosis, cáncer e inflamación (Alejo & Cántaro, 2020: p.15).

2.1.6. Aceites esenciales

Las fragancias de las flores provienen de los aceites esenciales, los cuales son una mezcla compleja de sustancias aromáticas.

Estos aceites esenciales tienen una gran variedad de efectos farmacológicos, por lo que constituyen la base de la aromaterapia, pero también son ampliamente utilizados en la elaboración de perfumes y cosméticos, en la industria farmacéutica y alimentaria, licorería y confitería (López, 2004, p.88).

Generalmente, los aceites esenciales constituyen del 0.1 al 1% del peso seco de la planta. Son líquidos, escasamente solubles en agua, pero solubles en alcoholes y en disolventes orgánicos. Cuando se encuentran frescos, a temperatura ambiente, son incoloros, ya que al oxidarse se resinifican y se vuelven de un color amarillento oscuro (se puede evitar depositándolos en recipientes de vidrio de color topacio, totalmente llenos y completamente sellados). La mayor parte de los aceites son menos densos que el agua (con la excepción de los aceites esenciales de canela, safrán y clavo) y aquellos que tienen un alto índice de refracción (López, 2004, p.89).

En cuanto a su composición química, a excepción de las esencias derivadas de heterósidos (como las esencias de las almendras amargas y mostaza), suelen ser mezclas complejas de componentes muy variables pertenecientes, casi exclusivamente, al grupo de los terpenos y, en menor medida al grupo de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano (aldehído cinámico, anetol, eugenol, safrol y aldehído anísico, entre otros). Los terpenos están formados por unidades de isopreno (5 carbonos), estos pueden ser monoterpenos (10 carbonos) y

sesquiterpenos (15 carbonos). Estos monoterpenos y sesquiterpenos, a su vez, pueden ser, acíclicos, monocíclicos y bicíclicos, y pueden estar oxigenados y desoxigenados (López, 2004, p.89).

Algunos aceites son casi monomoleculares, debido a que poseen un solo componente, mientras que, otros son ricos en 2-3 moléculas. Pero la mayoría son polimoleculares, porque contienen 3-4 moléculas mayoritarias, una cierta cantidad de moléculas minoritarias y, en ocasiones, cientos de moléculas diferentes que solo están presentes en pequeñas cantidades (López, 2004, p.89).

2.1.6.1. Clasificación de los aceites esenciales

Los aceites esenciales se clasifican de acuerdo con diferentes criterios como: consistencia, origen y naturaleza química de los componentes que se encuentran en mayor cantidad. Según su consistencia los aceites esenciales se dividen en esencias fluidas o líquidas, bálsamos y oleorresinas. Las esencias fluidas son volátiles a temperatura ambiente. Los bálsamos tienen una consistencia más espesa, son menos volátiles y tienden a sufrir reacciones de polimerización. Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas concentrado y suelen ser líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (Rodríguez et al., 2012: p.7).

Dependiendo su origen los aceites esenciales se clasifican en naturales, artificiales y sintéticos. Los aceites naturales no sufren modificación alguna ya sea esta física o química posterior a su extracción, ya que se obtienen directamente de las plantas, sin embargo, debido a su bajo rendimiento son muy costosas. Los artificiales se obtienen mediante procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus propios componentes, como, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecida con linalool, o la esencia de anís enriquecida con anetol. Los aceites esenciales sintéticos, como su propio nombre lo indica, son aceites esenciales que se han combinado a partir de sus componentes, los cuales a menudo se obtienen a través de procesos de síntesis química; estos son mucho más económicos y por tal razón son más utilizados como aromatizantes y saborizantes (esencias de vainilla, limón, fresa, etc.) (Rodríguez et al., 2012: p.7).

2.1.6.2. Métodos de extracción de aceites esenciales

Los aceites esenciales se pueden obtener de muestras de plantas por varios métodos como, por ejemplo: extracción con solventes volátiles, expresión, destilación con vapor de agua, y otros más.

Durante la expresión o prensado, el material vegetal es exprimido para así poder liberar el aceite, el cual es recolectado y filtrado. Este método se utiliza en el caso de las esencias de cítricas (Rodríguez et al., 2012: p.8).

En el método de destilación con vapor de agua, la muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, se coloca en una cámara inerte y se expone a una corriente de vapor de agua sobrecalentado; la esencia obtenida es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada para la elaboración de esencias fluidas, especialmente en perfumería. Se utiliza a nivel industrial por su alto rendimiento, la pureza del aceite obtenido y por la falta de tecnología sofisticada (Palacios & Castillo, 2015: p.15).

En la extracción con solventes volátiles, la muestra seca y molida se expone a solventes tales como alcohol, cloroformo, etc. A medida que estos disolventes disuelven la esencia, también extraerán otras sustancias, como la grasa y la cera, obteniendo como producto final una esencia impura. Se utiliza a escala de laboratorio debido a que a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles (Rodríguez et al., 2012: pp.8-9).

2.1.7. Cepas microbianas en estudio

En este trabajo experimental se estudiarán 2 tipos de cepas de microorganismos, las cuales son: *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.

2.1.7.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli o también conocida como *E. coli*, es una bacteria que se encuentra comúnmente en el tracto intestinal del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas. Sin embargo, algunas de ellas, como *E. coli* productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos cárnicos molidos o picados crudos o poco cocidos, leche cruda, hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas (OMS, 2018, p.1).

- **Morfología**

Escherichia coli (*E. coli*) es un bacilo Gram negativo, no formador de esporas, se mueven a través de flagelos peritricos, miden 0.5 μ de ancho por 3 μ de largo (Gil, 2018, p.3).

- **Epidemiología**

E. coli es la principal causa mundial de infecciones del tracto urinario y gastroenteritis, además son responsables de producir meningitis y septicemias en recién nacidos. Se transmiten al ser humano generalmente a través de alimentos y bebidas contaminados, por vía oral o por vía fecal, también pueden producirse enfermedades cuando el organismo presenta alteraciones en su sistema inmunológico debido a que este microorganismo forma parte de la microbiota normal (Marmolejo, 2018, p.22).

- **Condiciones de crecimiento**

Para el crecimiento de *E coli* el agar más comúnmente utilizado es el Agar Mc Conkey, también pueden cultivar en agar sangre de cordero y agar eosina azul de metileno (E.M.B) (Marmolejo, 2018, p.23).

2.1.7.2. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae es un bacilo Gram negativo, inmóvil, de la familia *Enterobacteriaceae*. Es la especie de mayor importancia clínica y mejor estudiada dentro del género *Klebsiella* (López & Echeverri, 2010: p.158).

- **Morfología**

Klebsiella pneumoniae es una bacteria de forma bacilar, gramnegativa, anaerobia facultativa, no móvil y a menudo se encuentra encapsulada, ampliamente distribuida en el ambiente, especialmente se encuentra presente en las superficies mucosas de mamíferos; en los seres humanos coloniza la nasofaringe y el tracto gastrointestinal (Echeverri & Cataño, 2010: p.241).

- **Epidemiología**

Klebsiella pneumoniae está ampliamente distribuido en el medio ambiente, específicamente cerca de las mucosas de animales mamíferos y las regiones del tracto gastrointestinal y la nasofaringe del ser humano. Generalmente los pacientes hospitalizados suelen ser más susceptibles de contraer una infección provocada por *K. pneumoniae*, ya que está directamente relacionada con la duración de la hospitalización (Marmolejo, 2018, p.24).

- **Condiciones de crecimiento**

Normalmente su crecimiento se lo realiza en agar McConkey a una temperatura de 37°C (Marmolejo, 2018, p.24).

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Descripción de los procesos

3.1.1. *Hidrodestilación*

Este tipo de destilación consiste en sumergir la matriz vegetal en el agua que actuará como agente extractor. Después de cargar el aparato, el contenido se lleva a ebullición y el vapor que se produce lleva consigo el aceite esencial disponible. Posteriormente el vapor producido es condensado para finalmente mediante decantación separar el aceite del agua (Yunge, 2011, p.6).

3.1.2. *Densidad*

La densidad es un parámetro simple de medir que permite distinguir entre las esencias sintéticas comunes y los aceites esenciales genuinos, para su determinación se utiliza una balanza de precisión y un pequeño matraz de vidrio conocido como picnómetro (Del Valle & Zambrano, 2015: p.64).

La densidad de un aceite esencial varía según la planta de la que se extrajo, cómo se purificó, cuánto tiempo se almacenó y cómo se almacenó (Rosillo, 2012, p.25).

3.1.3. *Índice de refracción*

La relación entre la velocidad de la luz monocromática en el aire y la velocidad de esa misma luz dentro de una sustancia se conoce como índice de refracción. Cuando la luz viaja del aire a la sustancia, nos proporciona la relación entre los senos de los ángulos de incidencia y refracción (Bernal, 2012, p.67).

3.1.4. *Método de difusión en disco (Kirby-Bauer)*

Para determinar la sensibilidad de un agente microbiano a un antibiótico, se utiliza el método de Kirby-Bauer o también conocido como método de difusión en agar.

En este procedimiento, el antimicrobiano o medicamento se difunde sobre la superficie del medio de cultivo de agar alrededor del disco. La difusión ocurre radialmente, haciéndose más

intensa cerca del disco y menos intensa a medida que se aleja del centro del medio (León, 2011, p.34).

Este proceso establece un vínculo entre la cantidad de una sustancia inhibidora presente y el halo de inhibición del crecimiento que se forma en la superficie del medio de cultivo después de que la cepa se siembra uniformemente y se coloca un disco que contiene la sustancia inhibidora en el agar (Carrillo, 2016, p.12).

3.1.5. Método de dilución

Este método se puede utilizar para calcular la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). El CMI se define como la menor concentración de extracto o sustancia que, después de 24 horas de incubación, es capaz de inhibir macroscópicamente los microorganismos. El CMB se describe como la concentración de producto vegetal que, después de un período de incubación de 24 horas, erradica más del 99.9% de los microorganismos.

Cuando se utiliza caldo para este procedimiento, se utilizan tubos o microtubos con cantidades crecientes de producto vegetal. La bacteria se cultivará en los tubos y, después de la incubación, será posible identificarla la concentración mínima inhibitoria. La cantidad de producto vegetal utilizada en este método es uno de los principales inconvenientes (Carrillo, 2016, p.13).

3.1.6. Concentración mínima inhibitoria (CMI)

Se define CIM como la mínima concentración de antibiótico que, en un período de tiempo predeterminado, es capaz de inhibir el crecimiento in vitro de un inóculo bacteriano previamente estandarizado (concentración conocida de gérmenes). La determinación de la CIM puede realizarse por micro o macrodilución en caldo o dilución en agar (Lanche, 2016, p.18).

3.1.7. Concentración mínima bactericida (CMB)

Es la menor concentración del antibacteriano capaz de producir la muerte del microorganismo, es, por consiguiente, un término de bacteriólisis que implica no sólo la suspensión del crecimiento, sino la destrucción de la bacteria (Lanche, 2016, p.18).

3.2. Materiales, equipos y reactivos

3.2.1. Materiales

3.2.1.1. Preparación de los aceites

- Materia vegetal.
- Frascos ámbar esterilizados de 30 ml.
- Vaso de precipitación de 1000 ml.
- Mangueras.

3.2.1.2. Determinación de la densidad

- Picnómetro 10 ml.
- Papel.

3.2.1.3. Determinación del índice de refracción

- Gotero.
- Papel.

3.2.1.4. Determinación de la actividad antimicrobiana

- Tubos de ensayo.
- Gradillas.
- Papel absorbente.
- Aluminio.
- Cajas Petri.
- Asa bacteriológica.
- Pipeta automática.
- Puntas amarillas.
- Erlenmeyer 100 ml.
- Erlenmeyer 500 ml.
- Gasa.
- Hisopos estériles.
- Algodón.

- Mechero.

3.2.1.5. Determinación de la concentración mínima inhibitoria

- Erlenmeyer 500 mL.
- Varilla de agitación.
- Espátula.
- Tubos de ensayo.
- Gradilla.
- Algodón.
- Mechero.

3.2.1.6. Determinación de la concentración mínima bactericida

- Cajas Petri.
- Erlenmeyer 250 mL.
- Espátula.
- Varilla de agitación.
- Mechero.

3.2.2. Equipos

3.2.2.1. Preparación de los aceites

- Alambique.
- Baño de circulación.
- Tubo condensador.
- Reverbero.

3.2.2.2. Determinación de la densidad

- Balanza analítica.

3.2.2.3. Determinación del índice de refracción

- Refractómetro.

3.2.2.4. Determinación de la actividad antimicrobiana

- Cámara de flujo laminar.
- Incubadora.
- Autoclave.
- Refrigeradora.
- Vortex.
- Reverbero.

3.2.2.5. Determinación de la concentración mínima inhibitoria

- Reverbero.
- Balanza analítica.
- Incubadora.
- Cámara de flujo laminar.

3.2.2.6. Determinación de la concentración mínima bactericida

- Reverbero.
- Balanza analítica.
- Incubadora.
- Cámara de flujo laminar.

3.2.3. Reactivos

3.2.3.1. Preparación de los aceites

- Agua destilada.
- Propilenglicol al 40%.
- Alcohol potable.

3.2.3.2. Determinación de la densidad

- Aceite esencial.
- Agua destilada.

3.2.3.3. *Determinación del índice de refracción*

- Aceite esencial.
- Agua destilada.

3.2.3.4. *Determinación de la actividad antimicrobiana*

- Agar Müller Hinton.
- Agar Dextrosa Sabouraud con Cloranfenicol.
- Caldo nutritivo.
- Caldo Müller Hinton.
- Alcohol potable.
- Agua destilada.

3.2.3.5. *Determinación de la concentración mínima inhibitoria*

- Caldo nutritivo.

3.2.3.6. *Determinación de la concentración mínima bactericida*

- Agar nutritivo.

3.2.4. *Microorganismos*

Tabla 3-1: Microorganismo usados

| MICROORGANISMOS | ATCC |
|------------------------------|-------------|
| <i>Escherichia coli</i> | 25922 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 7006 |

Realizado por: Rodríguez P., 2022

3.3. **Enfoque y alcance del trabajo**

3.3.1. *Enfoque de la investigación*

Posee un enfoque cuantitativo debido a que se orienta hacia el estudio de relaciones de causalidad entre las variables independientes que son las cepas ATCC y las variables

dependientes que son los aceites esenciales de *Borago officinalis* y *Artemisia absinthium*.

3.3.2. Alcance

Correlacional ya que en el trabajo experimental se busca la relación que existe entre la actividad antimicrobiana que presentan los aceites esenciales contra las cepas ATCC.

3.4. Tipo y diseño del trabajo

Tipo y diseño experimental debido a que se va a analizar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales manipulando las diferentes concentraciones de los aceites esenciales frente a las cepas ATCC.

3.5. Métodos, técnicas e instrumentos de la investigación

3.5.1. Extracción de los aceites esenciales

3.5.1.1. Método de hidrodestilación.

El proceso utilizado para la extracción de los aceites esenciales es el de hidrodestilación, el cual inicia con el acondicionamiento del material vegetal es decir limpiar y escoger las partes de la planta que se encuentren en mejor estado, se usó las hojas, tallo y flores. Antes de iniciar la extracción de los aceites se encendió el baño de circulación el cual estaba previamente llenado con una mezcla de agua destilada y propilenglicol al 40%.

A continuación, se procedió a llenar el alambique con aproximadamente 3 litros de agua destilada, una vez llenadas las tres cuartas partes del alambique se colocó 500g de materia vegetal, se cerró el alambique y se lo puso sobre un reverbero. Se conectó el condensador con el alambique y se procedió a encender el reverbero en nivel alto.

Una vez el alambique alcanzó una temperatura de 90⁰ C se bajo el nivel del reverbero a medio y en esta etapa empezó la destilación de agua y aceite esencial. Después de haber transcurrido tres horas se obtuvo una mezcla entre agua y aceite esencial. Para separar el aceite esencial del agua se utilizó un embudo de separación y finalmente se obtuvo un aproximado de 2.5 a 3 mL de aceite esencial. Este proceso se lo realizó 6 veces con cada especie vegetal.

3.5.1.2. Cálculo de la densidad de los aceites esenciales por método del picnómetro

Para realizar el cálculo de la densidad primero se pesó el picnómetro vacío y se anotó su peso inicial, posteriormente se enrasó el picnómetro con agua destilada se tapó el picnómetro y el agua salió por el capilar y se procedió a secar el picnómetro antes de pesarlo, se lo colocó en la balanza analítica y se anotó su peso final.

Se realizó el mismo proceso, pero esta vez con el aceite esencial, al enrasar el picnómetro con el aceite esencial, se procedió a secarlo, pesarlo y anotar su peso final.

Al final se obtuvo los datos necesarios para calcular la densidad de los aceites esenciales aplicando la siguiente fórmula:

$$d_{aceite} = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} * d_{agua}$$

Donde:

- ✓ **d_{aceite}** : es la densidad por calcular.
- ✓ **m_1** : es el peso del picnómetro vacío.
- ✓ **m_3** : es el peso del picnómetro con el aceite esencial.
- ✓ **m_2** : es el peso del picnómetro con agua destilada.

3.5.1.3. Cálculo del rendimiento de la extracción de los aceites esenciales

Para calcular el rendimiento de extracción de los aceites esenciales se calculó la masa final de cada uno de los aceites. Aplicando la siguiente fórmula y utilizando las densidades previamente obtenidas de los aceites esenciales, se pudo calcular la masa final del aceite obtenido:

$$d_{aceite} * v_{aceite} = m_{aceite\ obtenido}$$

Donde:

- ✓ **d_{aceite}** : es la densidad del aceite obtenido.
- ✓ **v_{aceite}** : es el volumen del aceite obtenido.
- ✓ **m_{aceite}** : masa del aceite obtenido.

Una vez calculada la masa final de cada uno de los aceites esenciales, se aplicó la siguiente fórmula para obtener el porcentaje de rendimiento de extracción de los aceites:

$$p = \frac{m_2}{m_1} * 100$$

Donde:

- ✓ **p:** es el porcentaje de rendimiento de la extracción
- ✓ **m₂:** masa final del aceite en gramos-
- ✓ **m₁:** masa inicial de la materia vegetal en gramos

3.5.1.4. Cálculo del índice de refracción de los aceites esenciales

Para el cálculo del índice de refracción el equipo utilizado fue un refractómetro. Se calibró el equipo con agua destilada a una temperatura aproximada de 20°C, se colocó una gota del aceite esencial, se procedió a la medición y se anotó el resultado.

3.5.2. Análisis antimicrobiano

3.5.2.1. Preparación del medio de cultivo

- **Agar Müller Hinton**

Para la preparación del agar Müller Hinton, se pesó 37 gramos de agar y se los colocó en un Erlenmeyer de 1000 mL con un litro de agua destilada, posteriormente se calentó y agito hasta disolver totalmente el agar. Se colocó el Erlenmeyer en una autoclave por 15 minutos a 121 °C.

Se retiró el Erlenmeyer de la autoclave y se lo dejó enfriar en la cámara de flujo laminar hasta que la mano soporte su temperatura. Se distribuyó 20 mL del agar en cada caja Petri, se dejó reposar en la cámara de flujo laminar por 5 minutos, se tapó y se guardó las cajas con la tapa hacia abajo en refrigeración para su posterior uso.

- **Procedimiento para la activación de los microorganismos KWIK-STIK**

Se sacó del refrigerador el envase que contenía la unidad KWIK-STIK hasta que alcanzó temperatura ambiente, luego se rasgó la bolsa y se retiró la unidad, se desprendió la etiqueta y se

etiqueto la caja Petri que contenía agar apropiado para el crecimiento del microorganismo. Para lograr liberar el líquido de hidratación se rompió la ampolla en la parte superior del KWIK-STIK, una vez liberado el líquido se golpeó la parte inferior del KWIK-STIK para que el líquido baje y entre en contacto con la microesfera, se apretó la parte inferior hasta que la microesfera y el líquido hidratante se disolvieron. A continuación, se saturó el hisopo con el material hidratado y se sembró en cajas Petri previamente etiquetadas con el nombre del microorganismo a activar. Una vez sembrado se llevó a incubación siguiendo la temperatura y condiciones apropiadas para cada microorganismo.

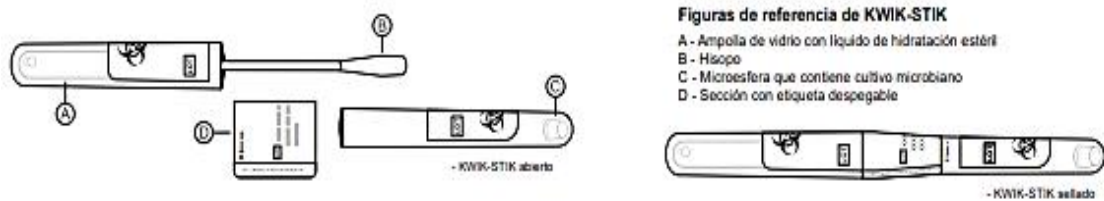


Ilustración 3-1: Descripción del producto

Fuente: Microbiologics, 2022

3.5.2.2. Procedimiento análisis antimicrobiano método de Kirby Bauer

- **Estandarización del inóculo**

Para la estandarización del inóculo, se suspendieron las colonias en una solución salina al 0,9%, se ajustó el inóculo a una turbidez equivalente al estándar 0,5 de McFarland y se comparó la turbidez de las suspensiones (Malo, 2018, p.41).

- **Preparación de los aceites esenciales a diferentes concentraciones**

Para la preparación de las distintas concentraciones de los aceites esenciales se tomó 7 Eppendorf y se los rotuló con las distintas concentraciones de 2500 ppm, 1250 ppm, 625 ppm, 312.5 ppm, 156.25 ppm, 78.125 ppm 39.06 ppm.

Se pesó en una balanza analítica 5 g de aceite esencial en un vaso de precipitación de 50 mL, luego se procedió a colocar 100 µL de DMSO en el vaso de precipitación que contenía los 5 g de aceite esencial y de esta manera se obtuvo la concentración madre de 5000 ppm de aceite esencial. Se colocó 100 µL de DMSO en cada Eppendorf rotulado, se tomó 100 µL de la solución de 5000 ppm y se la coloca en el Eppendorf rotulado con la concentración de 2500 ppm y se agitó hasta mezclar bien las dos soluciones. Se realiza diluciones seriadas tomando

100 μ L de cada Eppendorf que contenga el aceite esencial y el DMSO hasta llegar a la concentración de 39.06 ppm.

- **Preparación para la inoculación de las placas**

Para la inoculación de las placas, se retiró del congelador los discos de antibióticos hasta que estuvieron a temperatura ambiente, con la finalidad de reducir la condensación y la posibilidad de que la humedad afecte la concentración de los agentes antimicrobianos.

Se retiraron las placas de Agar Mueller-Hilton (MHA) de refrigeración y se las colocó en la cámara de flujo laminar por 15 minutos hasta que alcanzaron una temperatura aproximada de 20°C para evitar cualquier exceso de humedad. Se procedió a colocar un volumen de 20 ml de agar en las cajas Petri.

- **Inoculación de la placa**

Para la inoculación de las placas se realizó dentro de los 15 minutos siguientes a la estandarización del inóculo, con la ayuda de un hisopo estéril, se inoculó la placa de agar Müller Hinton con la técnica de siembra por agotamiento en estrías, garantizando que el inóculo se distribuya homogéneamente (Malo, 2018, p.43).

- **Aplicación de discos con agentes antimicrobianos**

Para aplicar los discos con los agentes antimicrobianos se los colocó 15 minutos después de la inoculación de la placa Agar Mueller-Hilton. Con la ayuda de una pinza se aplicaron los discos de sensibilidad (control positivo), discos con agua destilada (control negativo) y los discos embebidos con cada una de las concentraciones de aceite esencial. Se presionó firmemente para asegurar el contacto completo con la superficie del agar y se invirtieron las cajas Petri e incubaron a 37 °C por 24 horas (Malo, 2018, p.43).

- **Medición de halos de inhibición**

Para la medición de los halos de inhibición se retiró de la estufa las placas Petri, se examinó detenidamente verificando la inhibición antimicrobiana y se colocó la placa sobre una superficie de color negro y se procedió a medir el diámetro formado por los halos de inhibición con la ayuda de una regla Vernier digital (Malo, 2018, p.44).

3.5.3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI)

3.5.3.1. Procedimiento para la preparación del caldo nutritivo

Para la preparación del caldo nutritivo, se pesó 8 gramos de agar y se los colocó en un Erlenmeyer de 1000 mL con un litro de agua destilada, posteriormente se calentó y agitó hasta disolver totalmente el agar. Se colocó el Erlenmeyer en una autoclave por 15 minutos a 121 °C. Se retiró el Erlenmeyer del autoclave y se lo dejó enfriar totalmente, luego se procede a colocar el caldo en tubos de ensayo.

3.5.3.2. Procedimiento para la determinación de la concentración mínima inhibitoria

Para la preparación de las distintas concentraciones al 100 µL/mL, 50 µL/mL, 25 µL/mL, 12.5 µL/mL, 6.3 µL/mL y 3.1 µL/mL de los aceites esenciales. Se tomó 200 µL de cada aceite esencial en un tubo de ensayo, se añadió 100 µL de DMSO y se mezcló. Posteriormente se añadió 1700 µL de caldo nutritivo y se volvió a mezclar. Finalmente se obtuvo una concentración final de 100µL/mL.

Se tomaron 8 tubos de ensayo y se los rotuló del 1 al 8, el tubo 7 era el control positivo y el tubo 8 era el control negativo, primero se colocó 1 mL de caldo nutritivo desde él tubo 2 al tubo 7. Se realizó diluciones seriadas, del tubo 1 que contenía la concentración de 100 µL/mL se tomó 1 mL y se colocó en el tubo 2 mezclamos y se obtuvo la concentración de 50 µL/mL, del tubo número 2 se tomó 1 mL y se colocó en el tubo número 3 mezclamos y se obtuvo la concentración de 25 µL/mL, del tubo número 3 se tomó 1 mL y se colocó en el tubo número 4 mezclamos y se obtuvo la concentración de 12.5 µL/mL, del tubo número 4 se tomó 1 mL y se colocó en el tubo número 5 mezclamos y se obtuvo la concentración de 6.3 µL/mL, del tubo número 5 se tomó 1 mL y se colocó en el tubo número 6 mezclamos y se obtuvo la concentración de 3.1 µL/mL. Luego se colocó 300 µL del inóculo bacteriano del tubo 1 al 7, posteriormente se tapó todos los tubos con algodón y se incubó a 37 grados por 24 horas.

3.5.4. Determinación concentración mínima bactericida (CMB)

3.5.4.1. Procedimiento para la preparación de agar nutritivo

Para la preparación del caldo nutritivo, se pesó 31 g del caldo en una balanza analítica, se los colocó en un Erlenmeyer de 1000 mL con 1L de agua destilada, se colocó el Erlenmeyer en el reverbero para calentar hasta ebullición, se lo llevó al autoclave por 15 minutos a 121 °C. Se

retiró el Erlenmeyer del autoclave y se lo dejó enfriar totalmente, se procedió a colocar 1 mL de caldo en los tubos de ensayo.

3.5.4.2. Procedimiento para la determinación de la concentración mínima bactericida (CMB)

Una vez se determinó la CMI de cada uno de los aceites esenciales, se tomó 100 μ L de los tubos que no presentaron turbidez visible y se los colocó en cajas Petri que contenían agar nutritivo. Luego se llevó las cajas a incubación a 37grados por 24 horas.

3.5.5. Procedimiento general

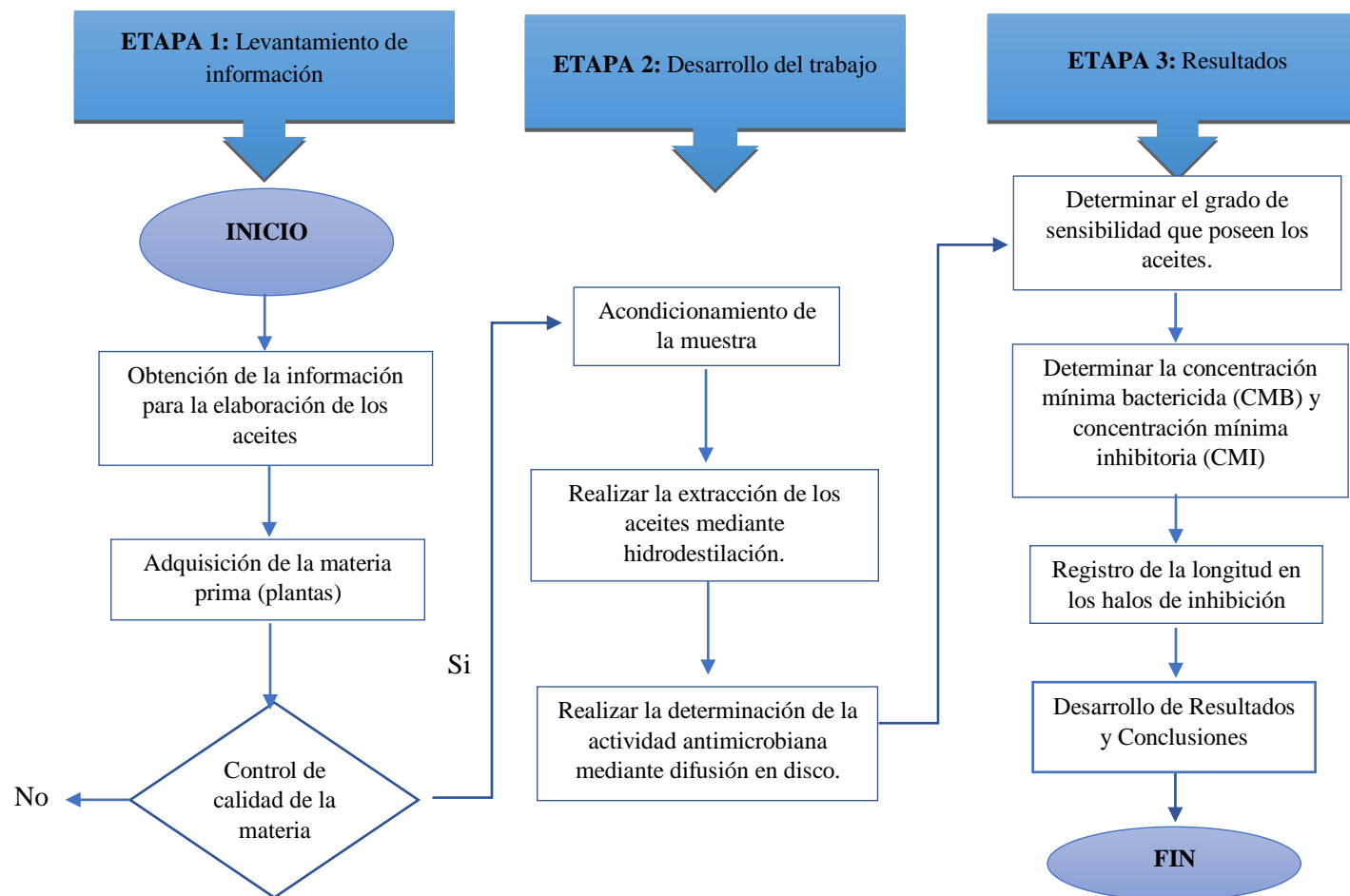


Ilustración 3-2: Procedimiento general de las actividades realizadas para el desarrollo de la tesis

Realizado por: Rodríguez P., 2022

CAPITULO IV

4. ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

4.1. Obtención de los aceites esenciales

Para la obtención de los aceites esenciales se pesaron 500 gramos de materia vegetal fresca y se usó el método de hidrodestilación, en las siguientes condiciones se obtuvieron los siguientes resultados:

- Tiempo de destilación: 3 horas.
- Temperatura de destilación: 90 °C.

Tabla 4-1: Tiempo y volumen de la extracción de los aceites

| <i>Numero de extracción</i> | <i>Borago officinalis</i> | <i>Artemisia absinthium</i> |
|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| 1 | 3.8 ml | 3.1 ml |
| 2 | 3.1 ml | 3.3 ml |
| 3 | 3.4 ml | 3.2 ml |
| 4 | 3.6 ml | 3.0 ml |

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

El método de hidrodestilación en comparación a otras metodologías para la extracción de aceites esenciales de plantas aromáticas suele presentar una menor cantidad de producto final, debido a la degradación térmica, sin embargo, (Barrios & Quispe, 2018: p.65) utilizando la técnica de arrastre de vapor de agua con 2 Kg de materia vegetal de *Artemisia absinthium* por 4 horas obtuvo un promedio de 2.8 mL de aceite esencial frente a los 3.15 mL de aceite obtenidos en el laboratorio mediante la técnica de hidrodestilación.

Por otro lado, para la obtención de aceite esencial de *Borago officinalis*, los autores (Molero & Martínez, 2022: p.103) mencionan que la extracción por dióxido de carbono líquido y supercrítico es la preferida debido a la alta calidad de los ácidos grasos en comparación a los procesos convencionales.

4.2. Características organolépticas

4.2.1. Aceite esencial de *Artemisia absinthium*

Tabla 4-2: Características organolépticas de *Artemisia absinthium*

| Característica Organolépticas | Resultados |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| Color | Verde oscuro-marrón |
| Olor | Característico a la especie vegetal |
| Textura | Líquido pegajoso |
| Apariencia | Homogénea, opaca |

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

4.2.2. Aceite esencial de *Borago officinalis*

Tabla 4-3: Características organolépticas de *Borago officinalis*

| Característica Organolépticas | Resultados |
|-------------------------------|----------------------------|
| Color | Amarillento |
| Olor | Característico a la planta |
| Textura | Viscosa, pegajosa |
| Apariencia | Homogénea |

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

Discusión

Ventos, es una empresa dedicada a la extracción y elaboración de aceites esenciales, en la ficha técnica se menciona que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* presenta un color verde oscuro- marrón pardo, con olor característico y amargo, con apariencia de líquido fluido, estos datos se asemejan a los obtenidos en el laboratorio, a excepción de la apariencia, puesto que nuestro aceite resulto de textura viscosa, esta similitud se debe a que se usó el mismo método extractivo y las mismas condiciones de trabajo (3 horas y 90°C).

Por su parte, la ficha de información técnica elaborada por Acofarma, indica que el aceite de *Borago officinalis* presenta como características organolépticas ser un líquido límpido, de color amarillento, con textura viscosa y olor característico de la especie. Resultados que concuerdan con las características del aceite esencial obtenido en el laboratorio.

4.3. Características fisicoquímicas

Tabla 5-4: Características fisicoquímicas de los aceites esenciales

| Característica | Aceite esencial de <i>Borago officinalis</i> | Aceite esencial de <i>Artemisia absinthium</i> |
|-----------------------------|---|---|
| Densidad | 0.940 | 0.860 |
| Índice de refracción | 1.4731 | 1.4645 |
| Rendimiento | 0.18% | 0.17% |

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

Discusión

La determinación del rendimiento del proceso de extracción de aceites esenciales se realizó mediante el cálculo de masa final para cada uno de los aceites, el cual se relaciona con la masa de materia prima utilizada, para con ello obtener el porcentaje de rendimiento alcanzado tras el proceso de hidrodestilación, para el caso de *Borago officinalis*, se obtuvo un rendimiento del 0.18% tras 3 horas de extracción, valor que es análogo al reportado por (Molero & Martínez, 2022, p.103) quienes obtuvieron mediante la técnica de extracción con fluidos supercríticos un rendimiento de extracción de 0.18% (peso/peso) durante 3 horas.

En contraparte a ello, (Barrios & Quispe, 2018: pp.65-66) obtuvieron un 0.13% de rendimiento tras 4 horas de extracción, frente al 0.17% alcanzado en el laboratorio para el caso de *Artemisia absinthium*, la variación existente está determinada por las diferentes técnicas utilizadas, la calidad de la materia vegetal, los factores ambientales y las demás condiciones de trabajo empleadas dentro del laboratorio.

4.4. Determinación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales mediante pruebas de sensibilidad por discos

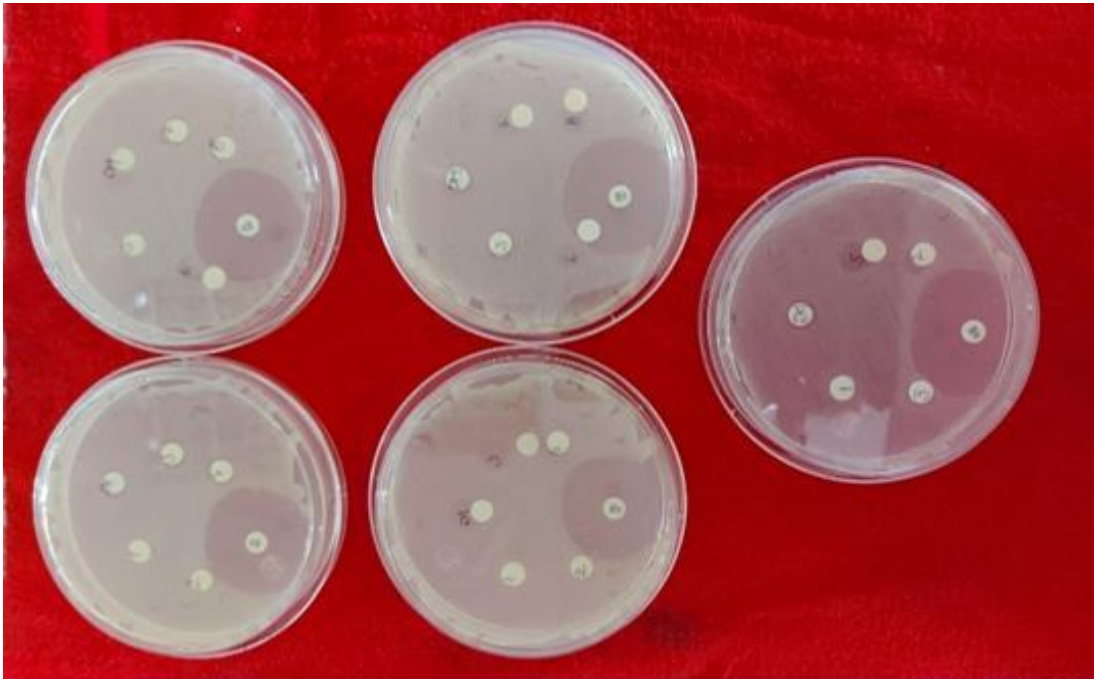


Ilustración 4-1: Halos de inhibición formados por el efecto antimicrobiano que presentan los aceites esenciales

Realizado por: Rodríguez P., 2022

La lectura se realizó midiendo los halos de inhibición con una regla sobre el crecimiento del microorganismo alrededor del disco. El diámetro de esta zona de inhibición fue directamente proporcional a la actividad antibacteriana del aceite esencial sobre los microorganismos estudiados. Para interpretar los resultados se tomó como referencias las pautas seguidas por (Viteri, 2020, p.15) que interpreta a la actividad de los aceites esenciales como:

- Nula si fue inferior o igual a 8 mm.
- Sensible de 9 a 14 mm.
- Sensibilidad alta de 15 a 19 mm.
- Sumamente sensible si fue igual o superior a 20 mm.

4.4.1. Actividad antimicrobiana que presentó el aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli*

Tabla 4-5: Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por el aceite esencial de *Borago officinalis*

| Concentraciones | Repetición 1 (mm) | Repetición 2 (mm) | Repetición 3 (mm) |
|---|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 5000 ppm | 12 | 11 | 12 |
| 2500 ppm | 11 | 10 | 10 |
| 1250 ppm | 9 | 10 | 10 |
| 625 ppm | 8 | 9 | 8 |
| 312.5 ppm | 8 | 8 | 8 |
| 156.25 ppm | 7 | 8 | 7 |
| 78.125 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 39.06 ppm | 6 | 6 | 6 |
| Control positivo (antibiótico fosfomicina 200 mcg) | 30 | 30 | 30 |
| Control negativo (DMSO) | 6 | 6 | 6 |

DMSO: dimetilsulfóxido

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

Discusión

Para evaluar la actividad antimicrobiana se empleó el método de difusión de discos de Kirby – Bauer, se observó que la mayor actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli*. correspondió a la concentración de 5000 ppm, en la cual se forma un halo de inhibición de 12 mm, las concentraciones desde 2500 hasta 156.25 ppm también presentan actividad antimicrobiana, frente a concentraciones menores a estas las cuales alcanzan los 6 mm de halos inhibición correspondientes al control negativo (DMSO).

La actividad antimicrobiana del aceite esencial está determinada por la diversidad de sus metabolitos, pues (Karimi et al., 2018: p.830) indica que las hojas y flores de *Borago officinalis* presentan fenoles, flavonoides e isoflavonoides, compuestos que presentan actividad antimicrobiana frente a bacterias gram positivas y gram negativas según las investigaciones de (Soriano, 2020, pp.15-17).

4.4.2. Determinación de la actividad antimicrobiana que presentó el aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*

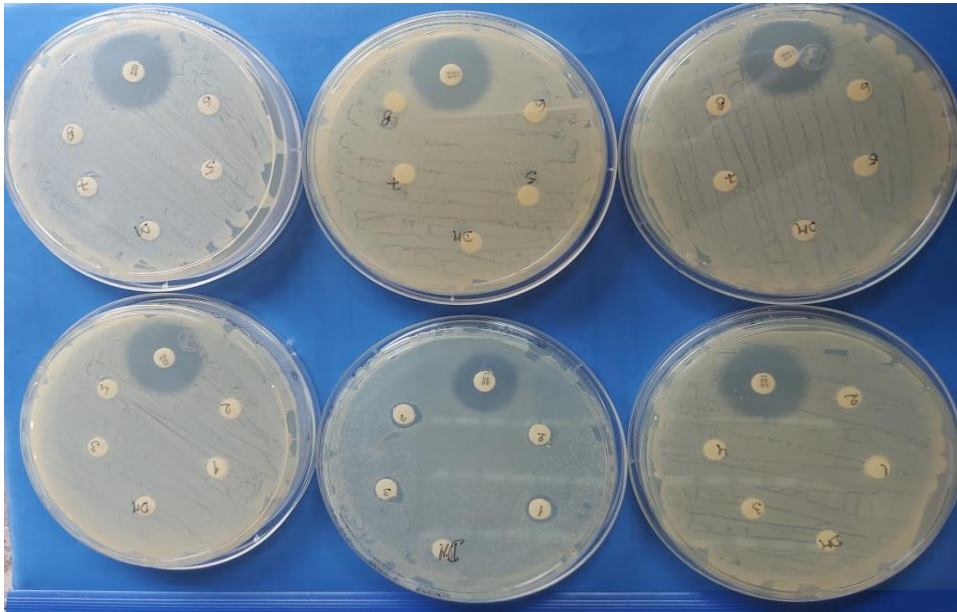


Ilustración 4-2: Halos de inhibición del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a *Klebsiella pneumoniae*

Realizado por: Rodríguez P., 2022

Tabla 4-6: Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por el aceite esencial de *Borago officinalis*

| Concentraciones | Repetición 1 (mm) | Repetición 2 (mm) | Repetición 3 (mm) |
|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 5000 ppm | 13 | 12 | 13 |
| 2500 ppm | 11 | 11 | 10 |
| 1250 ppm | 10 | 10 | 10 |
| 625 ppm | 9 | 9 | 8 |
| 312.5 ppm | 8 | 7 | 8 |
| 156.25 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 78.125 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 39.06 ppm | 6 | 6 | 6 |
| Control positivo (antibiótico amikacina 30 mcg) | 23 | 23 | 23 |
| Control negativo (DMSO) | 6 | 6 | 6 |

DMSO: dimetilsulfóxido

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

Discusión

El aceite esencial de *Borago officinalis* también presentó actividad antimicrobiana frente a cepas de *Klebsiella pneumoniae*, pues esta pertenece a la misma familia de las *enterobacterias* al igual que *Escherichia coli*, para este caso, el mayor halo de inhibición se obtuvo a la concentración de 5000 ppm (13 mm), sin embargo frente a este microorganismo la concentraciones por debajo de 156.25 ppm ya no presenta actividad antimicrobiana pues la medida de su halo de inhibición concuerda con el valor del control negativo (6mm).

La diferencia entre la actividad antimicrobiana de *Klebsiella pneumoniae* a concentraciones más bajas se debe a sus diversos mecanismos de resistencia, que según los datos de (Kennedy & Estigarribia, 2021: pp.86-87) *K. pneumoniae* produce enzimas betalactamasas de espectro extendido y enzimas Carbapenemasas que le permiten continuar su ciclo de vida sin verse afectada por ciertos antimicrobianos.

4.4.3. Actividad antimicrobiana que presentó el aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Escherichia coli*

Tabla 4-7: Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por el aceite esencial de *Artemisia absinthium*

| Concentraciones | Repetición 1 (mm) | Repetición 2 (mm) | Repetición 3 (mm) |
|---|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 5000 ppm | 14 | 13 | 15 |
| 2500 ppm | 11 | 10 | 11 |
| 1250 ppm | 9 | 10 | 8 |
| 625 ppm | 8 | 8 | 9 |
| 312.5 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 156.25 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 78.125 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 39.06 ppm | 6 | 6 | 6 |
| Control positivo (antibiótico fosfomicina 200 mcg) | 32 | 32 | 32 |
| Control negativo (DMSO) | 6 | 6 | 6 |

DMSO: dimetilsulfóxido

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

Discusión

La concentración de 5000 ppm del aceite esencia de *Artemisia absinthium* presentó mayor actividad antimicrobiana frente a la cepa de *Escherichia coli*, pues la misma presenta un halo de inhibición de 14 mm, dicha actividad continua hasta la concentración de 625 ppm, pues por debajo de esta concentración se observó un halo de inhibición de 6 mm, correspondiente al control negativo.

(Ghasemi et al., 2013: pp.865-866) mencionan que esta actividad antimicrobiana esta mediada por los compuestos volátiles de *Artemisia absinthium*, pues el mismo contiene: alcoholes, óxidos, cetonas, aldehídos y fenoles, sin embargo, dado su naturaleza lipofílica, los monoterpenos son capaces de actuar sobre la permeabilidad de la membrana citoplasmática de los microorganismos, lo que le confiere la principal actividad antimicrobiana de este aceite esencial.

4.4.4. Actividad antimicrobiana que presentó el aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*

Tabla 4-8: Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por el aceite esencial de *Artemisia absinthium*

| Concentraciones | Repetición 1 (mm) | Repetición 2 (mm) | Repetición 3 (mm) |
|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 5000 ppm | 9 | 10 | 11 |
| 2500 ppm | 7 | 8 | 8 |
| 1250 ppm | 7 | 7 | 9 |
| 625 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 312.5 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 156.25 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 78.125 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 39.06 ppm | 6 | 6 | 6 |
| Control positivo (antibiótico amikacina 30 mcg) | 23 | 23 | 23 |
| Control negativo (DMSO) | 6 | 6 | 6 |

DMSO: dimetilsulfóxido

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

Discusión

Al determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Artemisia absinthium*, se observó que frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*, la concentración de 5000 ppm presentó mayor actividad con un halo de inhibición de 10 mm, actividad que también comparten las concentraciones de 2500 y 1250 ppm respectivamente. Se observó además que, a partir de la concentración de 625 ppm, la actividad antimicrobiana es nula, pues los halos de inhibición concuerdan con las mediciones del control negativo (6 mm).

Este notable cambio referente a la actividad antimicrobiana frente a cepas *Klebsiella pneumoniae* se debe a los múltiples mecanismos de multi resistencia que presenta el microorganismo, además (Verdian et al., 2008: pp.60-61) mencionan que los aceites esenciales son menos efectivos para bacterias gram negativas debido a su pared celular rica en lipopolisacáridos.

4.4.5. Actividad antimicrobiana que presentó la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli*

Tabla 4-9: Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis*

| Concentraciones | Repetición 1 (mm) | Repetición 2 (mm) | Repetición 3 (mm) |
|---|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 5000 ppm | 11 | 9 | 10 |
| 2500 ppm | 10 | 8 | 9 |
| 1250 ppm | 9 | 7 | 8 |
| 625 ppm | 7 | 7 | 6 |
| 312.5 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 156.25 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 78.125 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 39.06 ppm | 6 | 6 | 6 |
| Control positivo (antibiótico fosfomicina 200 mcg) | 34 | 34 | 34 |
| Control negativo (DMSO) | 6 | 6 | 6 |

DMSO: dimetilsulfóxido

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

Discusión

Utilizando la técnica del método de difusión en discos de Kirby – Bauer, se realizó la evaluación de la actividad antimicrobiana de la mezcla de aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli* obteniéndose un resultado favorable puesto que a partir de los 625 ppm ya se observa una inhibición bacteriana, siendo la concentración de 5000 ppm la que mayor halo de inhibición presentó (10 mm).

En comparativa, la mezcla de los aceites esenciales presenta menor actividad antimicrobiana que cuando se los utiliza de manera independiente, los resultados obtenidos difieren de lo publicado por (Pájaro et al., 2017: pp.4-5), quienes indican que la mezcla de aceites esenciales presenta resultados tan efectivos como el control positivo, esto debido al aumento de los componentes con actividad antimicrobiana como el caso de los monoterpenos.

4.4.6. Actividad antimicrobiana que presentó la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*

Tabla 4-10: Diámetro en mm de los halos de inhibición alcanzado por la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis*

| Concentraciones | Repetición 1 (mm) | Repetición 2 (mm) | Repetición 3 (mm) |
|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 5000 ppm | 9 | 9 | 9 |
| 2500 ppm | 9 | 8 | 8 |
| 1250 ppm | 8 | 8 | 7 |
| 625 ppm | 8 | 7 | 7 |
| 312.5 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 156.25 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 78.125 ppm | 6 | 6 | 6 |
| 39.06 ppm | 6 | 6 | 6 |
| Control positivo (antibiótico amikacina 30 mcg) | 25 | 25 | 25 |
| Control negativo (DMSO) | 6 | 6 | 6 |

DMSO: dimetilsulfóxido

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

Discusión

La mezcla de aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* ante la cepa de *Klebsiella pneumoniae* presentó una actividad antimicrobiana a partir de los 625 ppm, siendo la concentración de 5000 ppm la que mayor halo se evidenció (9 mm).

La sensibilidad al mezclar los aceites esenciales es mucho menor que si se utiliza cada aceite por individual, (Lagos, 2012, p.55) menciona que un antimicrobiano tiene una actividad nula si el diámetro del halo de inhibición es menor a 8 mm, lo que deja en evidencia que bajo este criterio únicamente la concentración de 5000 ppm presenta verdadera actividad antimicrobiana al mezclar ambos aceites esenciales.

4.5. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Borago officinalis* y *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria se utiliza los aceites esenciales en las siguientes concentraciones de 100 µL/mL, 50 µL/mL, 25 µL/mL, 12.5 µL/mL, 6.3 µL/mL, 3.1 µL/mL, además se utiliza 1 mL de caldo nutritivo con 100 µL de cada microorganismo como control positivo y como control negativo se utiliza 1 mL de DMSO (dimetilsulfóxido).

4.5.1. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli*

Tabla 4-11: Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Borago officinalis*

| Tubo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--|--------------|-------------|-------------|---------------|--------------|--------------|---------------------|---------------------|
| Concentración | 100 µL/mL | 50 µL/mL | 25 µL/mL | 12.5 µL/mL | 6.3 µL/mL | 3.1 µL/mL | Control positivo | Control negativo |
| Crecimiento turbidez (repetición 1) | - | - | + | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 2) | - | - | + | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 3) | - | - | + | + | + | + | + | - |

(+): turbidez (-): no existe turbidez

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-11 se determina que la CMI del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli* se presenta en el tubo 2 que contiene la concentración de 50 µL/mL.

4.5.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*

Tabla 4-12: Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Borago officinalis*

| Tubo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--|--------------|-------------|-------------|---------------|--------------|--------------|---------------------|---------------------|
| Concentración | 100 μL/mL | 50 μL/mL | 25 μL/mL | 12.5 μL/mL | 6.3 μL/mL | 3.1 μL/mL | Control positivo | Control negativo |
| Crecimiento turbidez (repetición 1) | - | - | + | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 2) | - | - | + | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 3) | - | - | + | + | + | + | + | - |

(+): turbidez (-): no existe turbidez

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-12 se determina que la CMI del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae* se presenta en el tubo 2 que contiene la concentración de 50 μL/mL.

Discusión

La determinación de la concentración mínima inhibitoria permite conocer cuál es la concentración más baja del agente antimicrobiano que es capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo, lo cual se evidencia al no observar turbidez en los tubos de ensayos inoculados. En este caso, la CMI para ambos microorganismos es de 50 μL/mL.

(Alejo & Cántaro, 2020: pp.31-32) realizaron pruebas con extractos de *Borago officinalis* en donde obtuvieron que a una concentración del 50% logra un efecto inhibitorio en cepas de *Escherichia coli*, resultados que apoyan la investigación puesto que se evidencia que *Borago officinalis* si presenta actividad antibacteriana.

4.5.3. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Escherichia coli*

Tabla 4-13: Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Artemisia absinthium*

| Tubo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--|--------------|-------------|-------------|---------------|--------------|--------------|---------------------|---------------------|
| Concentración | 100 μL/mL | 50 μL/mL | 25 μL/mL | 12.5 μL/mL | 6.3 μL/mL | 3.1 μL/mL | Control positivo | Control negativo |
| Crecimiento turbidez (repetición 1) | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 2) | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 3) | - | - | - | + | + | + | + | - |

(+): turbidez (-): no existe turbidez

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-13 se determina que la CMI del aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Escherichia coli* se presenta en el tubo 3 que contiene la concentración de 25 μL/mL.

4.5.4. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*

Tabla 4-14: Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Artemisia absinthium*

| Tubo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--|--------------|-------------|-------------|---------------|--------------|--------------|---------------------|---------------------|
| Concentración | 100 μL/mL | 50 μL/mL | 25 μL/mL | 12.5 μL/mL | 6.3 μL/mL | 3.1 μL/mL | Control positivo | Control negativo |
| Crecimiento turbidez (repetición 1) | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 2) | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 3) | - | - | - | + | + | + | + | - |

(+): turbidez (-): no existe turbidez

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-14 se determina que la CMI del aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae* se presenta en el tubo 3 que contiene la concentración de 25 μL/mL.

Discusión

La determinación de la concentración mínima inhibitoria para el aceite esencial de *Artemisia absinthium* tanto para las cepas de *Escherichia coli* y de *Klebsiella Pneumoniae* se realiza observando la turbidez presente en los tubos con las diferentes concentraciones, las concentraciones 3.1, 6.3, y 12.5 μL/mL presentaron turbidez, mientras que con la concentración de 25 μL/mL ya se observa la actividad inhibitoria del aceite esencial, frente a las dos cepas estudiadas.

(Barrios & Quispe, 2018: pp.68-70) por su parte determinaron en su estudio que la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Artemisia absinthium* fue de 6.25 μL/mL, estas variaciones en cuanto a la CMI se explican dado las diferentes técnicas para la obtención de aceites esenciales empleadas, el lugar y las condiciones de recolección de la materia prima y

además su estudio se basó en la determinación de la concentración mínima inhibitoria frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

4.5.5. Determinación de la concentración mínima inhibitoria la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli*

Tabla 4-15: Concentración mínima inhibitoria de la mezcla de los aceites esenciales de g y *Borago officinalis*

| Tubo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--|--------------|-------------|-------------|---------------|--------------|--------------|---------------------|---------------------|
| Concentración | 100 μL/mL | 50 μL/mL | 25 μL/mL | 12.5 μL/mL | 6.3 μL/mL | 3.1 μL/mL | Control positivo | Control negativo |
| Crecimiento turbidez (repetición 1) | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 2) | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 3) | - | - | - | + | + | + | + | - |

(+): turbidez (-): no existe turbidez

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022.

En la Tabla 4-15 se determina que la CMI de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli* se presenta en el tubo 3 que contiene la concentración de 25 μL/mL.

4.5.6. Determinación de la concentración mínima inhibitoria la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*

Tabla 4-16: Concentración mínima inhibitoria de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis*

| Tubo | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--|--------------|-------------|-------------|---------------|--------------|--------------|---------------------|---------------------|
| Concentración | 100 μL/mL | 50 μL/mL | 25 μL/mL | 12.5 μL/mL | 6.3 μL/mL | 3.1 μL/mL | Control positivo | Control negativo |
| Crecimiento turbidez (repetición 1) | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 2) | - | - | - | + | + | + | + | - |
| Crecimiento turbidez (repetición 3) | - | - | - | + | + | + | + | - |

(+): turbidez (-): no existe turbidez

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-16 se determina que la CMI de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae* se presenta en el tubo 3 que contiene la concentración de 25 μL/mL.

Discusión

La determinación de la concentración mínima inhibitoria de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a cepas de *Escherichia coli* y de *Klebsiella pneumoniae*, se realizó siguiendo la misma metodología empleada para el caso de los aceites esenciales por separado, observando la turbidez en cada uno de los tubos, obteniendo que la CMI para la mezcla de aceites es de 25 μL/mL.

Al realizar una comparativa entre los resultados de la CMI de la mezcla de aceites esenciales, frente a los resultados obtenidos para cada uno, se observó que no existe una mejoría en la

actividad inhibitoria del aceite esencial de *Artemisia absinthium*, pues presenta la misma concentración mínima inhibitoria (25 µL/mL).

Sin embargo, para el caso de *Borago officinalis* si se identificó una mejoría respecto a su concentración mínima inhibitoria, pues por sí solo, su CMI es de 50 µL/mL y al realizar una mezcla en los aceites, la misma disminuye, lo cual concuerda con los resultados de (Pájaro et al., 2017: pp.4-5), quienes tras mezclar diferentes aceites esenciales consiguieron mejorar la concentración mínima inhibitoria frente a cepas de *Propionibacterium acnés*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, en comparación a sus usos por individualizado.

4.6. Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Borago officinalis* y *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*

Se toma 100 µL del tubo que se determina como CMI y 100 µL de cada uno de los tubos que no presentaron turbidez y se coloca en cajas que contienen agar nutritivo.

4.6.1. Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli*

Tabla 4-17: Concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Borago officinalis*

| Concentración | 100 µL/mL | 50 µL/mL | 25 µL/mL |
|-----------------------------------|-----------|----------|----------|
| Crecimiento (repetición 1) | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 2) | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 3) | - | + | + |

(+): crecimiento (-): no existe crecimiento

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-17 se determina que la CMB del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli* se presenta en la caja Petri que contiene la concentración de 100 µL/mL.

4.6.2. Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*

Tabla 4-18: Concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Borago officinalis*.

| Concentración | 100 µL/mL | 50 µL/mL | 25 µL/mL |
|-----------------------------------|-----------|----------|----------|
| Crecimiento (repetición 1) | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 2) | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 3) | - | + | + |

(+): crecimiento (-): no existe crecimiento

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022.

En la Tabla 4-18 se determina que la CMB del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae* se presenta en la caja Petri que contiene la concentración de 100 µL/mL.

Discusión

Mediante la técnica de sembrado en la caja Petri con agar nutritivo de cada una de las concentraciones que presentaron actividad inhibitoria, se realizó la determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Borago officinalis* frente a cepas de *Escherichia coli* y de *Klebsiella Pneumonia*. Las concentraciones de 25 y 50 µL/mL presentan crecimiento para ambas bacterias, siendo la concentración de 100 µL/mL la que presenta la actividad mínima bactericida, al no encontrarse ningún microorganismo luego de la incubación de las placas.

Los resultados reportados, se contraponen a los establecidos por (Layne, 2020, p.33) quien menciona que las hojas de *Borago officinalis* no presentan efecto bactericida alguno tras realizar una extracción hidroalcohólica y experimentar con cepas de *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Esta diferencia en los resultados se debe a las diferentes técnicas para la obtención de metabolitos, pues los aceites esenciales contienen una alta cantidad de estos, lo cual puede brindar un mayor efecto antimicrobiano que otros tipos de extracción.

4.6.3. Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Escherichia coli*

Tabla 4-19: Concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Artemisia absinthium*.

| Concentración | 100 µL/mL | 50 µL/mL | 25 µL/mL | 12.5 µL/mL |
|-----------------------------------|-----------|----------|----------|------------|
| Crecimiento (repetición 1) | - | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 2) | - | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 3) | - | - | + | + |

(+): crecimiento (-): no existe crecimiento

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-19 se determina que la CMB del aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Escherichia coli* se presenta en la caja Petri que contiene la concentración de 50 µL/mL.

4.6.4. Determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*

Tabla 4-20: Concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Artemisia absinthium*

| Concentración | 100 µL/mL | 50 µL/mL | 25 µL/mL | 12.5 µL/mL |
|-----------------------------------|-----------|----------|----------|------------|
| Crecimiento (repetición 1) | - | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 2) | - | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 3) | - | - | + | + |

(+): crecimiento (-): no existe crecimiento

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-20 se determina que la CMB del aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae* se presenta en la caja Petri que contiene la concentración de 50 µL/mL.

Discusión

La determinación de la concentración mínima bactericida del aceite esencial de *Artemisia absinthium* frente a cepas de *Escherichia coli* y de *Klebsiella Pneumoniae*, se realizó sembrando en placas los tubos que no presentaron turbidez y el de la concentración mínima inhibitoria (25 µL/mL) para observar el crecimiento bacteriano tras la incubación, las concentraciones de 12.5 y 25 µL/mL presentaron crecimiento de ambos microorganismos, no obstante a partir de la concentración de aceite esencial de *Artemisia absinthium* de 50 µL/mL ya no se observa crecimiento alguno de las dos enterobacterias estudiadas, siendo esta la concentración mínima bactericida.

(Barrios & Quispe, 2018: pp.70-71) obtuvieron como resultado que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* tiene como concentración mínima bactericida 12.5 µL/mL frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, estas diferencias a parte del microorganismo estudiado, está dada por las características propias del estudio, las condiciones atmosféricas y el tipo de extracción que se realizó.

4.6.5. Determinación de la concentración mínima bactericida de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli*

Tabla 4-21: Concentración mínima bactericida de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis*

| Concentración | 100 µL/mL | 50 µL/mL | 25 µL/mL | 12.5 µL/mL |
|-----------------------------------|-----------|----------|----------|------------|
| Crecimiento (repetición 1) | - | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 2) | - | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 3) | - | - | + | + |

(+): crecimiento (-): no existe crecimiento

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-21 se determina que la CMB de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli* se presenta en la caja Petri que contiene la concentración de 50 µL/mL.

4.6.6. Determinación de la concentración mínima bactericida de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae*

Tabla 4-22: Concentración mínima bactericida de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis*

| Concentración | 100 µL/mL | 50 µL/mL | 25 µL/mL | 12.5 µL/mL |
|-----------------------------------|-----------|----------|----------|------------|
| Crecimiento (repetición 1) | - | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 2) | - | - | + | + |
| Crecimiento (repetición 3) | - | - | + | + |

(+): crecimiento (-): no existe crecimiento

Fuente: Registro de los análisis, 2022

Realizado por: Rodríguez P., 2022

En la Tabla 4-22 se determina que la CMB de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Klebsiella pneumoniae* se presenta en la caja Petri que contiene la concentración de 50 µL/mL.

Discusión

Para determinar la concentración mínima bactericida de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a cepas de *Escherichia coli* y de *Klebsiella Pneumoniae*, se realizó siguiendo la misma metodología que con los aceites por individual, se sembró en placa y se observó el crecimiento de bacterias. Obteniendo como resultado que, para ambas bacterias, la concentración mínima bactericida correspondió a la mezcla cuya concentración fue 50 µL/mL.

En comparativa con los resultados de la CMB de cada aceite esencial por individual, se observó que la mezcla presentó una equivalencia en cuanto a la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Artemisia absinthium* (50 µL/mL), mientras que, sí se observó una mejora respecto al uso exclusivo de aceite esencial de *Borago officinalis*, pues para este la CMB fue de 100 µL/mL. Resultados que son concluyentes con los establecidos por (Pájaro et al., 2017: pp.4-5), quienes tras mezclar diferentes aceites esenciales consiguieron obtener una concentración

mínima bactericida de 1000 $\mu\text{L}/\text{mL}$ frente a cepas de *Propionibacterium acnés*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, en comparación a sus usos por individualizado.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se obtuvieron los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* mediante el método de hidrodestilación, el cual nos dio un rendimiento de 0.17% para *Artemisia absinthium* y 0.18% para *Borago officinalis*. A cada aceite obtenido se le realizó un análisis de las características fisicoquímicas y las características organolépticas por lo que cada aceite cumple con los parámetros de calidad.
- Se pudo determinar la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* mediante el método de difusión en disco o también denominado método Kirby Bauer, el cual demostró que el aceite de *Borago officinalis* a concentraciones de 5000 ppm tiene actividad antimicrobiana con un halo de inhibición de 12 mm frente a *Escherichia coli* y un halo de inhibición de 13 mm contra *Klebsiella pneumoniae*. El aceite de *Artemisia absinthium* a concentraciones de 5000 ppm presentó actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* con un halo de inhibición de 14 mm y frente a *Klebsiella pneumoniae* con un halo de inhibición de 10 mm, por lo que se concluye que el aceite de *Artemisia absinthium* tiene mayor actividad antimicrobiana que el aceite de *Borago officinalis*. Según la escala de Duraffourd se determinó que los dos aceites esenciales son sensibles frente a las dos cepas de interés clínico.
- La mezcla de los aceites de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a la cepa de *Escherichia coli* presento actividad antimicrobiana a la concentración de 5000 ppm con la formación de un halo de inhibición de 10 mm, lo que indica según la escala de Duraffourd que la combinación del aceite es sensible, también se determinó que la mezcla de los aceites de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* a una concentración de 5000 ppm presentó actividad antimicrobiana frente a *Klebsiella pneumoniae* con la formación de un halo de inhibición de 9 mm. Por lo que se concluye que la mezcla de los aceites esenciales es sensible como lo indica la escala de Duraffourd.
- Para determinar el CMI se utilizó el método de macro dilución en caldo, la cual determinó que la CMI del aceite esencial de *Borago officinalis* se encuentra en la concentración 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ frente a ambas cepas. La CMI del aceite de *Artemisia absinthium* frente a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* se presentó en la concentración 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, por el

contrario, se determinó que la CMI de la mezcla de los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* está en la concentración de 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, lo que indica que al mezclar los aceites no existe una mayor actividad inhibitoria.

- El aceite de *Borago officinalis* presentó una concentración mínima bactericida de 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ tanto para la cepa de *Escherichia coli* como para la cepa de *Klebsiella pneumoniae*, además se determinó que la concentración mínima bactericida presentada por el aceite de *Artemisia absinthium* contra las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* fue de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ en ambos casos. La mezcla de los aceites de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* frente a las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* presentaron una concentración mínima bactericida de 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

5.2. Recomendaciones

- Realizar un estudio más profundo para determinar los posibles principios activos que pueden tener las plantas de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis*.
- Elaborar otros estudios replicando el presente trabajo en donde se utilicen otras concentraciones de los aceites esenciales para comprobar la actividad antimicrobiana contra las cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*.
- Utilizar las cepas ATCC después de su activación lo más pronto posible debido a que las colonias se envejecen y al momento de realizar las pruebas los resultados obtenidos no serían confiables.
- Usar los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Borago officinalis* contra cepas gram positivas para evaluar su actividad antimicrobiana contra este tipo de bacterias.

BIBLIOGRAFÍA

ACOFARMA. *Fichas de información básica.* [En línea]. ACOFARMA, 2013, pp1-2 [Consulta: 12 febrero 2023]. Disponible en: <https://www.gadguamote.gob.ec/gadmc-g/plan-desarrollo1/pdot-guamote-2019-2023/3843-actualizado-pdot-guamote-2019-2023/file.html>

ALEJO, A., & CÁNTARO, J. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA “IN VITRO” DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE *Borago officinalis* L. “Borraja” FRENTE A *Escherichia coli* [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado). Universidad María Auxiliadora, Lima, Perú. 2020. [Consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/648/Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

BARRIOS, F., & QUISPE, P. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *artemisia absinthium* L. sobre *staphylococcus aureus*, Arequipa 2017 [en línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado). Universidad privada autónoma del sur, Facultad de Ciencias de la Salud Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica. Arequipa Perú. 2018. p. 65. [Consulta: 13 febrero 2023]. Disponible en: <http://repositorio.upads.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/UPADS/8/TESIS%20PAULINA%20QUISPE%20Y%20FLOR%20DE%20LIZ%20BARRIOS%20-%20F%20y%20B.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

BERMÚDEZ, M., et al. “Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Psidium guajava* y *Cymbopogon citratus*”. *Agronomía Mesoamericana* [en línea], 2019, (Costa Rica) 30 (1). [consulta: 21 mayo 2023]. ISSN 2215-3608. Disponible en: <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/33758/36523>.

CALDERÓN, G., & AGUILAR, L. “Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad”. *Revista médica de Costa Rica y Centroamérica* LXXIII [en línea], 2016, vol. 201. [consulta: 17 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/621/art03.pdf>.

CERÓN, N. “EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO DE AJENJO (*Artemisia absinthium* L.) SOBRE LA CEPA DE *Streptococcus mutans*. ESTUDIO IN VITRO” [en línea]. Quito: UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, 2018. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/16940/1/T-UCE-0015-ODO-061.pdf>.

DAZA, C. *EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO Y ANTIOXIDANTE DE TROPAEOLUM MAJUS. REVISIÓN DE LITERATURA.* [en línea]. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana, 2020. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/52667/Trabajo%20de%20grado%20Carlos%20Daza%20Final%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

DE SANTAYANA., et al. 2014. *Conocimientos tradicionales relativos de la biodiversidad* [en línea]. Monterreina. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: https://personal.us.es/racosta/Articulos/INVENTARIO_ESPA%C3%91OL.pdf.

DEL ARCO, J. Antibióticos: situación actual. *Farmacia Profesional* [en línea], 2014, 28 (5), [consulta: 18 mayo 2023]. ISSN 0213-9324. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-antibioticos-situacion-actual-X0213932414516605>.

DEL SALTOS, A.A., 2016. *ABSENTHA, A PROPÓSITO DE UNA INTOXICACIÓN. SU INFLUENCIA EN LA PINTURA* [en línea]. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ANA%20MARIA%20AGUILAR%20DE%20LOS%20SANTOS.pdf>.

ECHEVERRI, L., & CATAÑO, J.C., 2010. *Klebsiella pneumoniae como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia* [en línea]. Scielo. [consulta: 21 mayo 2023]. vol. 23. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v23n3/v23n3a06.pdf>.

FERNÁNDEZ, D., et al. “Los antibióticos y su impacto en la sociedad”. *MediSur* [en línea], 2021, 19 (3), pp. 477-491. [Consulta: 18 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/1800/180068641015/html/>.

FLORES, E. *Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto de corteza y hojas de Sangre de drago* [en línea]. Quito: UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, 2021. [consulta: 18 mayo 2023]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/23570/1/UCE-FCQ-CQF-Flores%20Marcela.pdf>.

GALLEGOS, M. 2016. “Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador”. Scielo [en línea], 77 (4). [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v77n4/a02v77n4.pdf>.

GAUCHO, D. *Estudio de la Medicina Tradicional como Potencial Atractivo Turístico en el Cantón Cuenca.* [en línea]. Cuenca: Universidad de Cuenca, 2013. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4892/3/Tesis.pdf>.

GHASEMI, Pirbalouti., et al. Essential oil compositions, antibacterial and antioxidant activities of various populations of *Artemisia chamaemelifolia* at two phenological stages. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2013, vol. 23, no 6, pp. 865-866.

GIL, C., 2018. *ANTIMICROBIANOS NATURALES SOBRE LA VIABILIDAD, MOVILIDAD TIPO SWARMING Y FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS EN PATOTIPOS DE E. coli* [en línea]. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/15891/1/1080290150.pdf>.

GONZÁLES, F., & TRELLES, V. “*DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIHELMINTICO DE Artemisia absinthium L (AJENJO)*”. [en línea]. S.l.: UNIVERSIDAD DE CUENCA, 2007. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/20261/1/TESIS.pdf>.

GONZÁLEZ, R., et al. 2020. “Actividad antibacteriana del extracto de *Mentha arvensis L.* (menta japonesa), frente a cepas productoras de piodermatitis”. *Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], 2020, 25 (4), [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubplamed/cpm-2020/cpm204b.pdf>.

JIMÉNEZ, J., et al. “Actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de citrus sinensis, citrus paradisis y citrus reticula”. *RECIAMUC* [en línea], 2022, 6 (3). [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <https://reciamuc.com/index.php/RECIAMUC/article/view/921/1335>.

KARIMI, Ehsan., et al. Borago officinalis L. flower: A comprehensive study on bioactive compounds and its health-promoting properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2018, vol. 12, p. 826-838.

KENNEDY Cristel., & ESTIGARRIBIA, Gladys. Perfil de resistencia antimicrobiana de los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae* en una Unidad de Cuidados Intensivos de Paraguay. *Infectio*, 2021, vol. 25, no 2, p. 86-87.

LAGOS, Eduardo. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial *Thymus vulgaris* L. “Tomillo” frente a *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 causante de gingivitis. 2012 [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica. Tacna, Perú. 2012. p. 55. [Consulta: 14 febrero 2023]. Disponible en: http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/2304/38_2012_lagos_la_rosa_er_fac_farmacia_y_bioquimica.pdf?sequence=1&isAllowed=y

LAYNES, Eduardo. Efecto antibacteriano de extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Borago officinalis* L. “borrajas” y *Senecio canescens* (H. & B.) Cuatr. “anqoripa” frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619. Ayacucho 2019. 2020. [En línea] (Trabajo de titulación). (Pregrado). Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología. Ayacucho, Perú. 2020. p. 33. [Consulta: 16 febrero 2023]. Disponible en: http://repositorio.unsch.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/UNSCH/4456/TESIS%20B894_Lay.pdf?sequence=1&isAllowed=y

LLORENS, J., et al. 2008. *Composición del aceite esencial de Artemisia absinthium L procedente del término municipal de Calamocha (Teruel). Caracterización de su quimiotipo y estudio de las variaciones estacionales* [en línea]. Xiloca. [consulta: 21 mayo 2023]. vol. 36. Disponible en: http://www.xiloca.org/data/Bases%20datos/Xiloca/X_36_61_84.pdf.

LÓPEZ, J., & ECHEVERRI, L., 2010. *K. pneumoniae: ¿la nueva “superbacteria”?* *Patogenicidad, epidemiología y mecanismos de resistencia* [en línea]. Scielo. [consulta: 21 mayo 2023]. vol. 23. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/iat/v23n2/v23n2a7.pdf>.

LÓPEZ, T., 2016. *Los Aceites Esenciales: La Perfecta Medicina de la Naturaleza.* Bloomington, MN: Balboa Press. ISBN 9781504353915.

MARMOLEJO, A., 2018. *EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA in vitro DE LOS EXTRACTOS DE Crinum x amabile* [en línea]. ECUADOR: ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/8820/1/56T00760.pdf>.

MOLERO A., & MARTÍNEZ E. “Quality of borage seed oil extracted by liquid and supercritical carbon dioxide”. *Chemical Engineering Journal*, n° 88 (2002), p. 103-109.

MSP. “Resistencia antimicrobiana”. INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD PÚBLICA REPORTE DE DATOS DE RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS. [en línea], 2019, vol. 1. [consulta: 21 mayo 2023]. ISSN 2014-2018. Disponible en: https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta_ram2018.pdf.

OMS. *E. coli*. [blog]. 2018. [en línea]. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>.

OMS. *Resistencia a los antibióticos*. [en línea]. 2020. [consulta: 18 mayo 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos#:~:text=Estas%20bacterias%20farmacorresistentes%20pueden%20causar,y%20que%20aumente%20la%20mortalidad>.

PÁJARO Nerlis., et al. “Potencialidades de una mezcla de aceites esenciales frente a bacterias implicadas en el acnÃ©”. *Revista Cubana de Farmacia*, 2017, vol. 51, n° 4, pp. 2-5

PALACIOS, A., & CASTILLO, W., 2015. Vista de MODELAMIENTO DE EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Aloysia citriodora* Y *Schinus molle*. *Edu.pe* [en línea]. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <https://revistas.uss.edu.pe/index.php/ING/article/view/254/264>.

QUINTERO, M. *MEDICINA ANCESTRAL Y COMPORTAMIENTO SOCIAL DURANTE LA PANDEMIA, SECTOR SUR DE GUAYAQUIL DE LA COOPERATIVA “DERECHOS DE LOS POBRES”* [en línea]. Guayaquil: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL, 2020. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/52715/1/Trabajo%20de%20Titulaci%C3%B3n%20Medicina_ancestral_Mildred_Yasmilet_Quintero_Contreras%20para%20CD%20-%20Nuevo.pdf.

QUIÑONES, D. “Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque «Una salud» Antimicrobial resistance: evolution and current perspectives in the context of the «One health» approach”. *Revista Cubana de Medicina Tropical* [en línea], 2017, 69 (3), [consulta: 18 mayo 2023]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/mtr/v69n3/a09_263.pdf.

RODRÍGUEZ, M., et al. 2012. PROCEDIMIENTOS PARA LA EXTRACCIÓN DE ACEITES ESENCIALES EN PLANTAS AROMÁTICAS. *Repositorioinstitucional.mx* [en línea]. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez_m.pdf.

SARAUZ, L. “Conocimiento ancestral de plantas medicinales en la comunidad de Sahuangal, parroquia Pacto, Pichincha, Ecuador”. *Revista de Investigación en Salud* [en línea], 2021a, 4 (10). [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <http://www.scielo.org.bo/pdf/vrs/v4n10/2664-3243-vrs-4-10-72.pdf>.

SOLIS, M., et al. 2022. “Infección comunitaria del tracto urinario por *Escherichia coli* en la era de resistencia antibiótica en Ecuador”. *MetroCiencia* [en línea], 2022, 30 (1). [consulta: 18 mayo 2023]. Disponible en: <https://revistametrociencia.com.ec/index.php/revista/article/view/321/420>.

SORIANO, Andrés. Ácidos fenólicos como agentes antibacterianos en el desarrollo de materiales activos para el envasado de alimentos. [En línea] (Trabajo de titulación). (Maestría). Universitat Politècnica de València, Ciencia e Ingeniería de los Alimentos. Valencia, España. 2020. pp. 15-17. [Consulta: 13 febrero 2022]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/149348/Soriano%20-%20C3%81cidos%20fen%C3%B3licos%20como%20agentes%20antibacterianos%20en%20el%20desarrollo%20de%20materiales%20activos%20pa....pdf?sequence=1>

VENTOS. *Ficha Técnica*. [En línea]. VENTOS, 2020, pp1-2 [Consulta: 13 febrero 2023]. Disponible en: https://www.ventos.com/index.php/es/?option=com_evsa&task=documentacion.mostrar&codi=001_WOTPFYIXG9_4772

VERDIAN, Rizi., et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia annua* L. essential oil from Iran. *Journal of Medicinal Plants*, 2008, vol. 7, no 4, pp. 60.

VIRGA, C., & AGUZZI, A. Farmacología de las infecciones. [en línea], 2020, vol. 1. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/27397/Farmacolog%C3%ADa%20de%20las%20infecciones.pdf?sequence=3&isAllowed=y>.

VIT, P., 2002. *Borago officinalis* L. *Ficha botánica de interés apícola en Venezuela, No. 1 Borraja* [en línea]. *Revista Facultad de Farmacia*. [consulta: 21 mayo 2023]. Disponible en: <http://bdigital.ula.ve/storage/pdf/farma/v43/articulo3.pdf>



ANEXOS

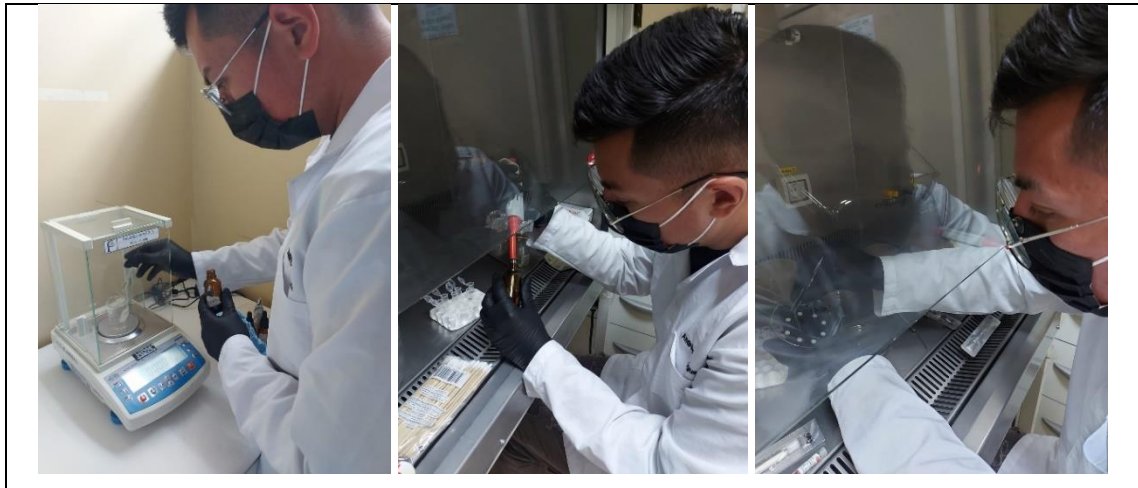
ANEXO A: EXTRACCION DE LOS ACEITES ESENCIALES.



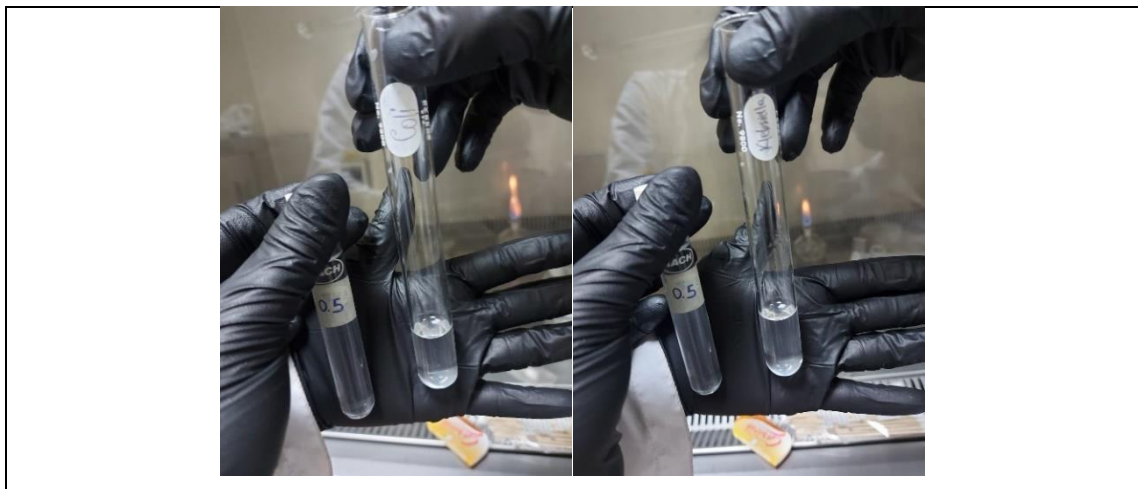
ANEXO B: ACEITES ESENCIALES.



ANEXO C: ANALISIS ANTIMICROBIANO.



ANEXO D: ESCALA Mc FARLAND.



ANEXO E: PLACAS SEMBRADAS.



ANEXO F: ANALISIS DEL CMI Y CMB.





epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 28 / 11 / 2023

| |
|--|
| INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S) |
| Nombres – Apellidos: Pedro Andrés Rodríguez Lema |
| INFORMACIÓN INSTITUCIONAL |
| Facultad: Ciencias |
| Carrera: Bioquímica y Farmacia |
| Título a optar: Bioquímica Farmacéutico |
| f. Analista de Biblioteca responsable: Ing. Rafael Inty Salto Hidalgo |

1596-DBRA-UPT-2023

