

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO

CARRERA:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERO EN
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES**

TEMA:

**EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO Y ACEITE
ESENCIAL DE PUMAMAQUI (*Oreopanax ecuadorensis* Seeman.) FRENTE
A: (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC:
19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus mutans*
ATCC: 25175), PATÓGENOS DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS**

AUTOR:

ANDRÉS RAFAEL GONZÁLEZ SÁNCHEZ

TUTORA:

TATIANA DE LOS ÁNGELES MOSQUERA TAYUPANTA

Quito, marzo 2016

Cesión de derechos

Yo, Andrés Rafael González Sánchez, con documento de identificación N° 1714656442, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de grado intitulado: Evaluación Antibacteriana de Extracto y Aceite esencial de Pumamaqui (*Oreopanax ecuadorensis* Seeman.) frente a: (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus mutans* ATCC: 25175), Patógenos de Enfermedades Respiratorias, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Firma



Nombre: Andrés González

Cédula: 1714656442

Fecha: 15 de marzo de 2016

Declaratoria de coautoría del docente tutor/a

Yo, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación Evaluación Antibacteriana de Extracto y Aceite esencial de Pumamaqui (*Oreopanax ecuadorensis* Seeman.) frente a: (*Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus mutans* ATCC: 25175), Patógenos de Enfermedades Respiratorias realizado por Andrés Rafael González Sánchez, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, marzo 2016



Firma

Tatiana de los Ángeles Mosquera Tayupanta

Cédula de identidad: 1711668010

Índice

Introducción	1
Capítulo 1	5
1. Marco Conceptual	5
1.1 Plantas Medicinales en el Ecuador	5
1.2 Etnofarmacia en el Ecuador	5
1.3 Plantas medicinales usadas para desórdenes respiratorios	6
1.4 Pumamaqui (<i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.)	7
1.4.1 Origen	7
1.4.2 Usos Etnomédicos	7
1.4.3 Composición Química	8
1.5 Aceite esencial	8
1.6 Extracto vegetal	9
1.6.1 Tipos de Extractos	10
1.7 Métodos de extracción de principios activos a partir del material vegetal o droga. 11	
1.7.1 Percolación	11
1.7.2 Destilación por arrastre de vapor	12
1.8 Enfermedades respiratorias	12
1.8.1 Enfermedades respiratorias causadas por bacterias cocos gram positivas:	13
1.8.2 Infecciones estafilocócicas	14
1.8.3 Infecciones estreptocócicas	14
1.9 Bacterias cocos gram positivas patógenos	14
1.10 Evaluación de la Actividad Antibacteriana: Método de Kirby-Bauer.	15
Capítulo 2	18
2. Marco Metodológico	18
2.1 Lugar de investigación	18
2.2 Lugar de recolección	18
2.3 Acondicionamiento del material vegetal	18
2.4 Obtención del extracto fluido de Pumamaqui (<i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman). 19	
2.5 Control de calidad del extracto fluido de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.	20
2.5.1 Densidad relativa	20
2.5.2 Índice de refracción	21
2.5.3 Determinación de sólidos totales	22
2.5.4 Screening o tamizaje fitoquímico	23
2.6 Obtención del aceite esencial de Pumamaqui (<i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.)	27
2.7 Estudio de la actividad antibacteriana del extracto fluido y del aceite esencial de Pumamaqui (<i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.) mediante el método de difusión modificado en pozo de Kirby-Bauer.	29
2.8 Análisis estadístico	36
Capítulo 3	37
3. Resultados y Discusión	37
3.1 Rendimiento de aceite esencial de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman, mediante el método de destilación por arrastre de vapor.	37
3.2 Control de calidad del extracto de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.	37
3.3 Actividad antibacteriana del extracto y aceite esencial de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.	41
3.3.1 Extracto al 25% de concentración en cepas bacterianas:	41

3.3.2 Evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman a las concentración de 5%, 2.5% y 1.25% en cepas bacterianas.....	44
3.4 Análisis estadístico.....	47
3.4.1 Aceite esencial de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.....	47
3.4.2 Extracto de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.....	50
Conclusiones.....	53
Recomendaciones	54
Referencias.....	55

Índice de tablas

Tabla 1. Interpretación para estafilococos	35
Tabla 2. Interpretación para estreptococos.....	35
Tabla 3. Ensayos realizados en el tamizaje fitoquímico del extracto de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman	38
Tabla 4. Densidad relativa del extracto de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.	39
Tabla 5. Índice de refracción de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.	40
Tabla 6. Sólidos totales de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.....	41
Tabla 7. Valores en mm de las 5 repeticiones y su promedio, de la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman al 25%, blanco (+) y blanco (-) frente a las bacterias en estudio.	42
Tabla 8. Valores en mm de las 5 repeticiones y su promedio, de la evaluación de la actividad antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman, al 5%, 2.5%, 1.25%, blanco (+) y blanco (-) DMSO frente a las bacterias en estudio.	45
Tabla 9. Análisis de varianza ANOVA de una vía del aceite esencial de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 y <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.....	48
Tabla 10. Análisis de varianza ANOVA de una vía del extracto de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619 y <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615.....	50
Tabla 11. Teste de Tukey HSD ALL-Pairwise Comparisons del extracto de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman y halos de inhibición de <i>Staphylococcus aureus</i>	

ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae*

ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615..... 51

Índice de figuras

Figura 1. Promedio de los halos de inhibición del extracto y Cle (+), sobre las cepas estudiadas, por A. González, 2015	43
Figura 2. Promedio de los halos de inhibición del aceite esencial a 5% y 2.5% de concentración y Cle (+), sobre las cepas estudiadas, por A. González, 2015.....	46
Figura 3. Promedio de los halos de inhibición del aceite esencial al 1.25% de concentración y Cle (+), sobre las cepas estudiadas, por A. González, 2015.....	47

Índice de ecuaciones

Ecuación 1. Densidad relativa del extracto de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.	21
Ecuación 2. Sólidos totales del extracto de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman. ...	23
Ecuación 3. Rendimiento del aceite esencial <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.	28
Ecuación 4. Concentración control positivo Clemizol.....	33

Índice de anexos

Anexo 1. Plantas medicinales silvestres y de los mercados en los andes del Ecuador. *=Endémica, M= Plantas medicinales de mercados, S= Plantas medicinales silvestres.....	64
Anexo 2. Certificado del Herbario Nacional de la PUCE de <i>Oreopanax ecuadorensis</i> Seeman.....	65
Anexo 3. Pesaje del material vegetal molido, previo al proceso de percolación.....	66

Resumen

El presente trabajo tiene por finalidad evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial y extracto fluido de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman. Se utilizó el aceite esencial de la especie vegetal obtenido por arrastre de vapor y se realizaron diluciones del mismo con Dimetilsulfóxido (DMS) trabajándose con las siguientes concentraciones (5%, 2.5% y 1.25%), también se evaluó la actividad del extracto fluido al 25% de concentración obtenido por percolación.

La evaluación antibacteriana se realizó mediante la técnica de difusión en pozo frente a: *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus mutans* ATCC: 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, bacterias consideradas como representantes de los principales patógenos causantes de enfermedades respiratorias.

En base a los resultados y el análisis estadístico se puede concluir, que el extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, al 25% de concentración presentó actividad inhibitoria frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 con halos de inhibición de 12.1 mm de diámetro, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con halos de inhibición de 10.9 mm de diámetro y halos de inhibición de 10.4 mm de diámetro para *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, mientras que no se evidenció actividad inhibitoria frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. El aceite esencial presentó en las concentraciones al 5%, 2.5% y 1.25% halos de inhibición de 6 mm de diámetro para: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC: 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Palabras clave: *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, patógenos respiratorios, antibacteriano, aceite esencial, extracto fluido.

Abstract

The main objective of this project work is to evaluate the antibacterial activity of the essential oil and fluid extract of *Oreopanax ecuadorensis* Seeman. It was used the essential oil of the vegetal specie obtained by duct diffusion and they were performed dilutions of the same with DMSO, working with the next concentrations (5%, 2.5% and 1.25%), also was evaluated the activity of the fluid extract at 25% of concentration performed by percolation.

The duct diffusion technique was made with different concentration levels of essential oil and only one concentration of fluid extract compared to: *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus mutans* ATCC: 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, those bacteria considered as representative as principal pathogens of respiratory diseases. Based on the results and the statistical analysis it could be concluded that *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, with the 25% of concentration by the extract presented inhibitory activity in front of *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 with 12.1 mm, follow of *Streptococcus mutans* ATCC 25175 with 10.9 mm and 10.4 mm to *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, while not evidenced inhibitory activity in front of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Whereas the essential oil presents in the 5%, 2.5% and 1.25% concentrations values of 6 mm of diameter of inhibition to: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, and y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Keywords: *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, respiratory pathogens, antibacterial, essential oil, fluid extract.

Introducción

Con el pasar del tiempo las enfermedades infecciosas han dado lugar a padecimientos más graves, provocados muchos de ellos a la resistencia bacteriana, producida por el mal uso de antibióticos de síntesis, dando apertura a la medicina natural, como opción de control y tratamiento para combatirlas.

El conocimiento curativo de las plantas ha trascendido de generación en generación abriendo nuevos caminos para la investigación y descubrimiento de alternativas de tratamiento en enfermedades de incidencia en las poblaciones.

En este tema Sharapin (2000, pág. 24), menciona que, “en los países en desarrollo el uso de plantas medicinales representa el 80% del arsenal terapéutico, destacándose su uso en la producción de extractos o para la obtención de sustancias naturales puras”.

En Ecuador, el saber ancestral sobre el manejo de las plantas en la medicina tradicional ha sido enajenado por herencia de nuestros antepasados (Rios & De la Cruz, 2008). Este saber ancestral es relevante, al percibir que la flora ecuatoriana reconoce la subsistencia de más de 4000 especies únicas; llevando a resaltar que “el Ecuador tiene aproximadamente el 10% de todas las especies de plantas del mundo” Chiriboga (1995, pág. 109).

La flora del Ecuador es altamente diversa y contiene una gran riqueza, la misma que ha sido aprovechada por el ser humano en algunas actividades, desde el campo de la alimentación hasta el campo médico.

Orientados en el área médica, fundamentados en el saber ancestral, justificamos que la investigación de los recursos naturales, validará las técnicas ancestrales, y servirán de apoyo para que estas plantas consideradas como medicinales, se conviertan en fitofármacos con actividad probada. Dentro de esta riqueza en

biodiversidad se menciona a especies como *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, la cual en estudios se la designa como especie endémica del Ecuador, un estudio realizado por (Cerón, 2006), incluye a *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, entre una de las 18 especies expendidas en las hierberías de los mercados para tratar resfríos.

Relacionando el uso tradicional de la planta, nos permite suponer su potencial uso para afecciones respiratorias. Las infecciones respiratorias agudas están entre los tres primeros motivos de morbilidades en el mundo; y en Latinoamérica dichas infecciones ligadas a la bronquitis son causantes de más del 80% de todos los fallecimientos (Espinoza, 2012).

La neumonía ha estado presente entre las diez principales causas de morbilidad general en el país, ha ido avanzando en orden de importancia, llegando en el 2011 a ocupar el orden número uno, convirtiéndola en la principal causa de morbilidad, González (2013, págs. 4-5).

Relacionar las propiedades etnobotánicas de una especie vegetal con las necesidades de alternativas terapéuticas de patologías de alta incidencia en el país, es una de las razones de realizar el presente trabajo de investigación, con el objetivo de corroborar la actividad que pueda presentar la especie vegetal sobre las bacterias patógenas más representativas de este tipo de infecciones.

En el Ecuador el uso de plantas medicinales generaría una alternativa terapéutica efectiva, tanto como para la población con bajo poder adquisitivo, como para las personas que ya hayan presentado resistencia a antibióticos convencionales, enfocándonos en la actividad antibacteriana frente a patógenos respiratorios.

Así el presente trabajo tiene como finalidad evaluar la actividad antibacteriana del extracto y aceite esencial de Pumamaqui (*Oreopanax ecuadorensis* Seeman), sobre las bacterias: *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, debido a que éstas bacterias son causantes de las principales enfermedades respiratorias como: amigdalitis, bronquitis, neumonía y complicaciones de las vías respiratorias.

El desarrollo de la investigación contempla la obtención y estandarización del extracto hidroalcohólico de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, como también la obtención del aceite esencial obtenido de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, con los extractos vegetales se determinará la actividad antibacteriana evaluando el diámetro de los halos de inhibición antibacteriana.

Las conclusiones de la investigación se basaran en la hipótesis que tanto el extracto fluido en su única concentración y las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, si tienen efecto antibacteriano sobre: *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus mutans* ATCC: 25175, principales patógenos respiratorios.

Capítulo 1

1. Marco Conceptual

1.1 Plantas Medicinales en el Ecuador

Balslev, Navarrete, de la Torre, & Macía, (2008, pág. 2), señalan que, “se han reportado 5172 especies para las que se otorgado usos en el Ecuador”. Vega (2013, pág. 2), “de las 5172 especies registradas, 3118 son medicinales, donde el 75% son nativas y el 5% son endémicas; considerándolas como plantas de uso etnofarmacológico”.

La etnobotánica en el Ecuador se origina como una pauta considerada al área botánica y social, por lo que su valoración se refleja en el uso de las plantas por las personas para varias aplicaciones como la medicina (Ríos, Kosiol, & Granda, 2007).

1.2 Etnofarmacia en el Ecuador

Ríos & De la Cruz (2008, pág. 36) señalan que: “Las nacionalidades y pueblos indígenas del Ecuador tienen un valioso conocimiento tradicional relacionado con el manejo de la naturaleza; sobre todo los conocimientos tradicionales relacionados con las plantas medicinales”.

Muñoz, Montes, & Wilkomirsky (2004, pág. 15) indican que:

La estructura química y la actividad biológica diversa que caracteriza a los constituyentes de los productos naturales, abre nuevos campos de exploración en sus aspectos químico-farmacológico; no todas las especies vegetales cuentan con este tipo de estudio, hay muchos aspectos que permanecen empíricos, lo cual es una limitante para seleccionar los constituyentes bioactivos y su aplicación terapéutica.

Mediante la unión de la medicina natural con la medicina sintética es posible fortalecer el proceso de convalecencia, llevando a obtener un método nuevo de combate de la medicina actual frente al tratamiento y cuidado de enfermedades (Marcalla, 2010). La etnofarmacología en el Ecuador ha ido en crecimiento, a causa de la diversidad de recursos de flora con la que cuenta el país, generando un incremento en productos con principios activos más rentables por sus características medicinales (Vega, 2013).

Rosillo (2012, pág. 8) añade que “si bien la flora del Ecuador ha sido estudiada desde hace tiempo, la investigación fitoquímica es más bien escasa”, sin embargo hoy en día se están impulsando propuestas dispuestas al uso razonable de la flora, los aceites esenciales son la mejor alternativa ante los productos sintéticos (Vega, 2013).

1.3 Plantas medicinales usadas para desórdenes respiratorios.

A pesar de que el hombre ha utilizado las plantas, como recurso para combatir enfermedades, el impacto en el uso de plantas medicinales ha cambiado a través de los años (Cañigüeral, Dellacassa, & Bandoni, 2003).

Cabe resaltar lo dicho por; Navarro, Ortega, García, Stubing, & Bautista (2005, pág. 5):

Las afecciones respiratorias afectan a un elevado porcentaje de la población, sobre todo aquellos trastornos que afectan a la totalidad del aparato respiratorio debido a procesos catarrales o gripales, su sintomatología se puede mejorar mediante el uso de medicamentos elaborados con plantas medicinales como alternativa a los antibióticos sintéticos, ya que éstos fármacos naturales cada vez limitan la aparición de las muy conocidas resistencias bacterianas.

También resaltar lo señalado por Torre, Navarrete, Muriel, & Balslev, (2008, pág. 109) quienes mencionan que, “el 12% de especies medicinales curan desórdenes como la gripe, resfríos, así como afecciones pulmonares y bronquiales como el asma”.

1.4 Pumamaqui (*Oreopanax ecuadorensis* Seeman.)

Ordóñez, Arbeláez, & Prado, (2004, págs. 72-73) mencionan que:

El Pumamaqui es un árbol originario de la Sierra montañosa; la poca existencia de esta especie se debe también a sus bajos rendimientos de germinación y de propagación mediante estacas ya que toma mucho tiempo para su crecimiento hasta la obtención misma del árbol. Los nombres comunes que recibe hacen referencia a la forma de sus hojas de forma palmeada; puesto que “pumamaqui” en Quechua significa “mano de puma”.

1.4.1 Origen

Calles (2007, pág. 12) señala que, “El género *Oreopanax* consta de 80 especies distribuidas en América tropical, en el Ecuador forma un componente importante de los bosques andinos y altoandinos”

Ordóñez, Arbeláez, & Prado (2004, págs. 72-73) añaden que: “Es una especie propia del bosque montano bajo, de preferencia en suelos húmedos y crece favorablemente entre 2000 y 2600 msnm.

Rhoades (2006, pág. 156:157) plantea que , “la constante deforestación existente pone en peligro al Pumamaqui, como consecuencia solo persisten pequeños parches, primordialmente en las quebradas”.

1.4.2 Usos Etnomédicos

Aguilar, Ulloa, & Hidalgo (2009, pág. 17), señalan que:

Se usa en infusiones como purgante con un poco de trago. El vapor de la planta mezclado con la “colca” que es un árbol de pequeña longitud con flores pequeñas, se emplea para tratar el reumatismo. En baño, se utiliza para recuperarse del parto. Las hojas sirven para tapar el fermento de la chicha de jora.

1.4.3 Composición Química

No hay estudios suficientes que se hayan realizado sobre la composición química del Pumamaqui, sin embargo, CESA (1993) citado por Yáñez (2011, pág. 10), señala que “el Pumamaqui contiene principios activos como: aceites esenciales, taninos, saponinas y ácido diterpénico, los cuales se usan para efectos medicinales”.

Dentro de las formas fitoquímicas más utilizadas en la etnomedicina, destacan los aceites esenciales y los extractos, formas que contienen gran cantidad de activos y se considerarán para la presente investigación.

1.5 Aceite esencial

El empleo de aromas y aceites vegetales existe desde los 3500 años A.C., en lo que respecta al campo farmacéutico son utilizados como analgésicos e inhalantes para descongestionar las vías respiratorias (Zaruma & Illescas, 2014). También los aceites esenciales según Cruz (2001, pág. 31), “defienden de las infecciones, neutralizan sustancias tóxicas, matan hongos y desinfectan las mucosas”.

En las sociedades indígenas del Ecuador el uso de los aceites esenciales ha trascendido a través de las generaciones hasta nuestro presente, como una herencia de nuestros antepasados (Bandoni, 2002). Sin embargo, León & Robles (2009, pág. 20) añaden que, “en el país existe producción de aceites esenciales

crudos pero en pequeña escala, por lo que se desconocen estadísticas nacionales de exportación”.

Así en el Ecuador, el uso de aceites esenciales tiene un escaso porcentaje de empleo, a causa del desaprovechamiento de los recursos que poseemos explotando nuestros bosques con la finalidad de obtener madera, desechando el follaje sobrante de los árboles donde se guarda este potencial fitoquímico presente en las plantas medicinales (León & Robles, 2009).

Los aceites esenciales son activos vegetales que pueden utilizarse en varios campos, tal como indica la referencia del Diario el Universo en el que se menciona un aumento a nivel mundial en la demanda de aceites esenciales entre el 2007-2008 para el área cosmética (Diario El Universo, 2009). Dejando notar que no sólo se puede utilizar los aceites esenciales para el campo alimenticio, sino que también generarían un gran impacto en el campo farmacéutico.

1.6 Extracto vegetal

Son elaborados a partir de plantas y sus diferentes partes secas, obteniendo extractos sólidos, líquidos o semilíquidos (Carrión & García, 2010).

Las plantas, para defenderse de plagas y microorganismos secretan y almacenan una gran cantidad de componentes en su sistema, elementos simples como fenoles, derivados de los fenoles (flavonas, flavonoides), alcaloides, terpenoides entre otras; Thuille (2003) citado por García (2006). Aquellas sustancias fitoquímicas actúan en el organismo humano y por consecuencia, se proponen investigaciones que validen la potencialidad de estos componentes y los efectos positivos sobre la salud humana (Kuskoski, Roseane, García, & Troncoso, 2005).

Por miles de años la medicina y productos naturales han tenido una conexión cercana a través del uso de medicamentos tradicionales y

extractos naturales; estudios clínicos, farmacológicos y químicos de estos medicamentos tradicionales, que han sido derivados principalmente de plantas, han sido la base de los primeros medicamentos como son: aspirina, digitoxina, morfina, quinina y pilocarpina (Butler, 2009, pág. 2141).

El Ministerio de Ambiente (2013, pág. 254) dice que “en el Ecuador los productos botánicos son suplementos naturales de origen vegetal; sus efectos son de gran beneficio para el estado de salud general, dependiendo de la combinación especial de sustancias contenida en cada hierba”. A la vez añadir lo dicho por FLACSO (2013, pág. 14) “las exportaciones no tradicionales, compuestas principalmente por flores naturales, extractos y aceites vegetales, experimentaron un crecimiento en 2011 del 24.5%, superior a las tradicionales, gracias al fuerte empuje en los extractos y aceites vegetales”.

1.6.1 Tipos de Extractos

Voigt (1982) citado por Carrión & García (2010, pág. 30).

a) Extractos Fluidos: son extractos de drogas que con la concentración prescrita de etanol, están preparados de forma que una parte de droga corresponde a una o dos partes del extracto fluido. Por lo general los extractos fluidos se obtienen por percolación.

b) Extractos Blandos: Se los obtiene con mezclas hidroalcohólicas y tienen mayor concentración de componentes activos que la droga vegetal; aun así su uso es escaso por su complicación al utilizarlos (Carrión & García, 2010).

Voigt (1982) señala que:

c) Extractos Secos: los señala como extractos que tienen una consistencia seca y son fácilmente pulverizables, se obtienen por evaporación del disolvente y desecación del residuo. Presentan una concentración muy superior de principio activo que la droga original, son preparados bastantes estables (aunque en ocasiones resultan higroscópicos) y de fácil manipulación. (Carrión & García, 2010, pág. 30)

Castillo (2007):

d) Crioextractos: Se obtiene por molturación de la droga vegetal correctamente desecada, sometida a condiciones de congelación (-196° C), mediante inyección de nitrógeno líquido, de forma que los principios activos no se ven alterados por la acción del calor desprendido en un proceso de molturación (Carrión & García, 2010, pág. 31).

1.7 Métodos de extracción de principios activos a partir del material vegetal o droga.

Se conoce la presencia de distintos métodos extractivos vegetales, los cuales requieren un líquido extractivo relacionado a la característica química del principio activo y el método técnico que se aplique (Carrión & García, 2010). Los métodos aplicados para esta investigación son los dos siguientes.

1.7.1 Percolación

Botella & Bermejo (2004, pág. 95:99) indican que, “la palabra percolación se deriva etimológicamente de “per” (a través de) y de “colar” (hacer gota a gota). Se la utiliza desde mucho tiempo atrás y se trabaja con un aparato llamado percolador”. Mientras que Lamarque y otros (2008, pág. 49) añaden que “es un

proceso ampliamente difundido, sin embargo el material debe estar debidamente compactado de modo que el disolvente eluya con cierta lentitud dando tiempo al mismo a tomar contacto con los tejidos y extraer los componentes deseados”.

1.7.2 Destilación por arrastre de vapor

Método para obtener aceites esenciales, a partir del material vegetal lo más fresco posible. Si un líquido orgánico es insoluble en agua y tiene una presión de vapor apreciable a la temperatura de ebullición de aquella, puede destilarse arrastrándolo con vapor de agua. Este método permite la máxima difusión del vapor a través del material vegetal, reduciendo los daños que pudiesen sufrir los componentes de las esencias extraídas por otros métodos. Los aceites esenciales son sustancias volátiles e insolubles en agua por lo que pueden ser arrastradas por una corriente de vapor de agua (Lamarque, y otros, 2008, pág. 50).

El aparato que se utiliza se denomina destilador, consta de una caldera, refrigerante y matraz de recogida. Para destilar un líquido se le calienta a ebullición en una caldera, se llevan los vapores por una conducción al refrigerante cuyo tubo está rodeado por una corriente de agua fría; de esta forma el vapor condensa de nuevo a líquido (Botella & Bermejo, 2004, pág. 77).

1.8 Enfermedades respiratorias.

Macedo & Mateos, (2008, pág. 137) mencionan que, “las infecciones respiratorias (IR) son afecciones muy frecuentes. Constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad en todas las edades”. En esta investigación se trabajará

con bacterias gram positivas, que causan enfermedades respiratorias como: el asma, bronquitis, neumonía, entre otras.

1.8.1 Enfermedades respiratorias causadas por bacterias cocos gram positivas:

Las bacterias que se clasifican por su forma esférica, son los nombrados cocos (estafilococos, estreptococos, neumococos y meningococos); los cuales pueden causar infecciones en el ser humano (Merck Sharp and Dohme, 2012).

La Organización Mundial de la Salud (2001, pág. 1) señala que:

Es evidente hoy en día la resistencia de las bacterias a los medicamentos sintéticos, siendo las infecciones respiratorias parte del 85% de la mortalidad en el mundo. Sin embargo hay que señalar que la resistencia a los medicamentos sintéticos es un proceso biológico natural, debido a que por cada agente antimicrobiano nuevo creado se detecta cepas de microorganismos resistentes al mismo.

Así mismo Cruz (2001, pág. 18) menciona que “el uso de antibióticos sintéticos antes que aparezca la infección para intentar prevenirla es otra causa de resistencia bacteriana”.

Por lo antes señalado, nace como alternativa el uso de los antibióticos naturales, los cuales según Cruz (2001, pág. 21):

A diferencia de los antibióticos sintéticos nos ayudan a conservar nuestra salud por medio más sanos y sin padecer efectos secundarios ya que los antibióticos naturales atacan efectivamente a las bacterias sin afectar al cuerpo, mejorando el sistema inmunológico y siendo depurativos en el organismo, ya que

arrastran los desechos existentes en el cuerpo por el uso inadecuado de antibióticos sintéticos.

1.8.2 Infecciones estafilocócicas

Según Todd (2005, pág. 177:178) son causadas principalmente por: “*Staphylococcus aureus*, bacterias aeróbicas Gram positivo, la cual puede causar neumonía necrosante y fístulas broncopleurales”; mientras que Macedo & Mateos (2008, pág. 149) dicen que “el *Staphylococcus aureus* es el principal agente causante de la otitis externa”.

1.8.3 Infecciones estreptocócicas

Bacterias Gram positivas que generan patrones concretos de afecciones, debido a su variedad y particularidad química (Merck Sharp and Dohme, 2012).

Prado (2001, pág. 6) indica que “uno de los principales patógenos responsables de elevada morbilidad y letalidad es *Streptococcus pneumoniae* principal agente causante de sinusitis, otitis media, septicemia, meningitis y neumonía”. También añadir lo dicho por Macedo & Mateos (2008, pág. 141), “*Streptococcus pyogenes* es considerado el principal agente bacteriano de faringitis”. Mientras que *Streptococcus mutans* es el principal agente causante de la caries dental (Ojeda, Oviedo , & Salas, 2013); lo cual conlleva a presentar cuadros de infecciones respiratorias (Llop, 2001).

1.9 Bacterias cocos gram positivas patógenos

En la presente investigación se trabajó directamente con las siguientes bacterias cocos, que son causantes de cuadros respiratorios infecciosos, las cuales las describimos a continuación:

a) *Staphylococcus aureus*

Las enfermedades generadas por *S. aureus*, en el tracto respiratorio son más amenazantes a consecuencia de la resistencia del patógeno a antibióticos como la penicilina (Zepeda & Gaído , 1977).

b) Staphylococcus pneumoniae

Prado (2001, pág. 6) añade:

Bacteria que está dentro de las principales prioridades como problema de salud pública, responsable de elevada morbilidad y letalidad ya que es uno de los principales agentes causales de una gran variedad de infecciones. Con el paso del tiempo el impacto de las infecciones se ha acentuado, llegando a ser resistentes a la penicilina, cefalosporinas, cloranfenicol y cotrimoxazol.

c) Staphylococcus mutans

Bacteria anaerobio facultativo, capaz de formar polisacáridos, fue descubierto por Clarke en 1924 y a pesar de ser un habitante normal de la flora bacteriana bucal también se lo considera como el principal patógeno relacionado con problemas de caries dental (Bortowski, Bueno, & Rolim, 2005).

d) Staphylococcus pyogenes

Bacteria Gram positiva que se agrupa en cadenas, citotóxica y antigénica; causa daño por adherencia a la mucosa faríngea (faringitis), transmitida por secreciones respiratorias o saliva, precursora también de enfermedades como: impétigo, septicemia puerperal y fiebre escarlatina (Rivera , 1998).

1.10 Evaluación de la Actividad Antibacteriana: Método de Kirby-Bauer.

Taroco, Seija, & Vignoli (2008, pág. 665) en cuanto al método señalan que es la “denominada prueba de difusión en discos, este método es cualitativo y se basa en la estandarización para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido”.

Método creado por los investigadores Kirby-Bauer, en el cual impregnaron discos de papel filtro con antibiótico, evaluando la resistencia bacteriana frente a los discos colocados sobre una placa recién sembrada, el agente comienza a difundirse de inmediato y establece un gradiente de concentración alrededor del disco de papel. Durante la incubación las bacterias crecen en la superficie de la placa salvo donde la concentración de antibióticos en el gradiente formado alrededor de cada disco es lo bastante alta como para inhibir el crecimiento Forbes (2007, pág. 194:195).

A la vez añadir lo acotado por Alzate, Arteaga & Jaramillo (2011, pág. 379):

De esta técnica en el año 1971 los investigadores Tagg y McGiven plantearon un método modificado al de Kirby-Bauer, el método de difusión en pozo. Consiste en hacer pozos en un agar nutritivo incluido en una caja petri con el uso de un sacabocado estéril, la cantidad de pozos depende del halo de inhibición esperado y en cada pozo la cantidad del extracto o antibiótico a evaluar se añade por cantidades estandarizadas.

Se eligió el método de difusión en pozo por lo expuesto en la investigación realizada por Rojas, García y otros (2005), donde al evaluar la efectividad de ambos métodos (difusión en disco y pozo), demuestran mayor efectividad del método de difusión en pozo con una expectación superior al 90% y sugiriéndolo para realizar ensayos de actividad antimicrobiana con plantas medicinales. Así mismo otros autores (Corrales, Castillo, & Melo, 2013), añaden que el método de difusión en pozo es más sensible y ventajoso para estudios sobre extractos vegetales, ya que pueden esparcirse fácilmente en el agar.

Capítulo 2

2. Marco Metodológico

2.1 Lugar de investigación

La investigación experimental se realizó en los laboratorios de Proyectos, Tesis, Microbiología, Tecnologías Aplicadas, Ciencias Biológicas y Química Analítica de los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana, Campus El Girón-Quito.

2.2 Lugar de recolección

El material vegetal se adquirió en el cantón Quero. “El cantón Quero se localiza en la provincia de Tungurahua a 18.5 km al suroeste de Ambato, se encuentra a una altura de 2760 msnm sobre la cumbre del monte Igualata” Cubillo (2005, pág. 25).

Se utilizó 60 kilogramos de hojas de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, los cuales fueron transportados en sacos de yute. La especie en estudio fue certificada por el Herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (Anexo 2).

2.3 Acondicionamiento del material vegetal

Se realizaron tres pasos para el acondicionamiento adecuado del material vegetal, los cuales fueron:

- La limpieza: separar las partes deterioradas, con presencia de manchas y con señales de presencia de insectos.
- La desinfección: lavar las hojas con abundante agua previamente tibia, y luego fueron sumergidas en solución de hipoclorito de sodio al 1% en agua por 10 minutos.

- El secado: realizar dos procesos de secado diferentes, uno para el material vegetal destinado a percolación y otro para el material vegetal destinado para la destilación. Así el secado para el proceso de destilación; colocar las hojas humedecidas sobre periódicos extendidos sobre las estanterías metálicas del laboratorio de Ciencias Biológicas por 24 horas, para que el agua en exceso se extraiga por absorción del papel y sin que incida la luz del sol evitando la pérdida de sustancias volátiles del material vegetal para posteriormente llevarlas a destilar y obtener el aceite esencial. Mientras que el proceso de secado para realizar la percolación se realizó colocando el material vegetal en 3 bandejas en una cámara climática con control de humedad programada a 50°C y 40% de HR por 72 horas.

Domínguez (1973) citado por Ayala & Vásquez (2014, pág. 29) establece que “se obtiene el 1% de rendimiento de aceite esencial en hierba fresca”, sin embargo no se encontraron referencias similares, ni para la especie en estudio ni para especies similares, tomando como referencia la anterior para trabajar en esta investigación.

2.4 Obtención del extracto fluido de Pumamaqui (*Oreopanax ecuadorensis* Seeman).

Para obtener el extracto vegetal con el cual evaluaremos la actividad antibacteriana, realizamos el método de percolación.

a) Proceso de percolación

Se empezó con la molienda del material vegetal seco, se pesó en una balanza 1 kg del mismo, luego se pasó el material vegetal molido hacia el percolador y se lo llenó con una mezcla hidroalcohólica de alcohol etílico al 96% y agua destilada en una relación de 1:4, se cerró el percolador procurando que todo el material vegetal sea cubierto por la mezcla hidroalcohólica y observando que no haya presencia de

burbujas; se dejó macerando a temperatura ambiente (15-30 °C) por 72 horas, agitando ocasionalmente. Pasadas las 72 horas se continuó con la filtración del extracto con el uso de papel filtro y bomba al vacío, después de filtrar se procedió a evaporar en un rotavapor al vacío hasta obtener un extracto fluido, se la envasó en frasco ámbar, se la etiquetó y se almacenó el extracto obtenido.

2.5 Control de calidad del extracto fluido de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

El control de calidad del extracto es un proceso importante pues mediante él se puede definir la calidad y pureza del extracto, se aplicaron 3 procedimientos físicos para la evaluación del extracto, los cuales son: Densidad relativa, índice de refracción y sólidos totales. Y se realizó un ensayo cualitativo mediante un tamizaje fitoquímico con los siguientes ensayos: Alcaloides, aminoácidos, antocianidina, azúcares reductores, cardiotónicos, fenoles, flavonoides, lactonas, quinonas, resinas, saponinas, taninos, y triterpenos. Para realizar los métodos físicos y el método cualitativo de tamizaje fitoquímico nos basamos en la metodología de Miranda (2001, pág. 41:65).

2.5.1 Densidad relativa

Su fundamento se basa en la similitud de una masa de un volumen de un líquido a analizar a una temperatura que oscila entre 24°C y 26°C y el peso de un volumen equivalente de agua a una temperatura afín.

Procedimiento:

Pesar el picnómetro vacío y seco, luego se llenó el picnómetro con la porción del extracto manteniéndolo a una temperatura de 25°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), se lo dejó en reposo por 15 minutos y se procedió a pesar en la balanza analítica.

Posteriormente se lava el picnómetro, se lo seca y limpia bien, y se repite el procedimiento siendo esta vez agua destilada la porción de ensayo de igual manera se la mantiene a 25°C por 15 minutos en reposo y se realiza el pesaje correspondiente

Cálculo

Ecuación 1. Densidad relativa del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Fuente: (Miranda, 2001, pág. 63).

Dónde:

M_1 = masa del picnómetro con analito en gramos

M_2 = masa del picnómetro con el agua en gramos

M = masa del picnómetro limpio

D_{25} = densidad relativa 25/25 °C

2.5.2 Índice de refracción

Miranda (2001, pág. 63) indica que el índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, representada por “la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz incidente y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio”.

Procedimiento

Utilizar un refractómetro de Abbé ATAGO, encender y colocar sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, utilizando una varilla de vidrio para uniformizar la muestra en el prisma de medición; se ajustó el equipo seleccionado a la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, se movió el

compensador cromático hasta colocar la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claros y oscuros (Miranda, 2001, pág. 64).

Luego de haber realizado el ajuste del refractómetro, se colocó una gota del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman sobre el prisma de medición, cerramos el prisma de medición y procedemos de igual manera que con el agua, hasta colocar la intersección del retículo sobre la línea límite entre los campos claro y oscuro.

Expresión de los resultados:

De preferencia realizar las lecturas por triplicado y calcular el promedio de las mismas. Según Miranda (2001, pág. 64) “dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002”.

2.5.3 Determinación de sólidos totales

Para su determinación se utiliza el método de desecación en estufa, el cual se fundamenta en pesar la sustancia con humedad, secarla y volver a pesar la sustancia seca; así con la diferencia de pesos se puede hallar el porcentaje de sólidos totales Uriel (2012, pág. s.n).

Procedimiento:

Colocar 5 ml de extracto en cada una de las tres cápsulas de porcelana previamente taradas a 105⁰C, evaporarlas en baño María a una temperatura de 80 °C en una olla con agua sobre una plancha calefactora, hasta que quede un residuo seco. Luego llevar las cápsulas a una estufa y dejar por 3 horas a una temperatura de 240 °C, pasado el lapso de tiempo retirar las cápsulas de la estufa y traspasar a un desecador hasta llegar a temperatura ambiente.

Así para obtener la masa constante entre una pesada y otra se hizo las lecturas en un tiempo de secado de 60 minutos para cada lectura; se realizaron tres lecturas por cápsula, teniendo un total de 9 lecturas en 3 horas .

Expresión de los resultados:

Ecuación 2. Sólidos totales del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

$$St = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

Fuente: (Miranda, 2001)

Dónde:

St= sólidos totales

Pr= peso de la cápsula más el remanente en gramos

P= peso de la cápsula vacía en gramos

V= volumen de la cantidad del menstuo en ml

100= factor matemático para el cálculo

2.5.4 Screening o tamizaje fitoquímico

Su fundamento es señalar de manera cualitativa los grupos químicos existentes en una planta y partiendo de allí guiar la extracción o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. Consiste en la aplicación de solventes apropiados y el desarrollo de coloración y precipitación, permitiendo una evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y con un bajo costo (Miranda, 2001).

Procedimiento:

Todos los ensayos se realizaron basándonos en la metodología de Migdalia (2001, pág. 41:48).

- a. Ensayo de Dragendorff: Evidencia la presencia de alcaloides, para ello la alícuota del extracto se evapora a baño maría en caso de contener solvente orgánico y luego redissolver con 1 ml de ácido clorhídrico al 1% en agua. Al obtener una solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff.

Expresión de Resultados: Al visualizar opalescencia es (+), turbidez definida (++), precipitado (+++).

- b. Ensayo de Mayer: Se procede de igual manera que en el ensayo de Dragendorff, únicamente que al obtener la solución ácida se agrega una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agita y se filtra. Luego se añade 3 gotas de la solución reactiva de Mayer.

Expresión de Resultados: Si hay opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitado coposo (+++).

- c. Ensayo de Wagner: Se realiza el mismo procedimiento que los 2 ensayos anteriores (Dragendorff y Mayer), al obtener la solución ácida, se añade 3 gotas del reactivo de Wagner.

Expresión de Resultados: Si hay opalescencia (+), turbidez definida (++), precipitación (+++).

- d. Ensayo de Baljet: Evidencia la presencia de cumarinas en un extracto. Para ello se toma una alícuota del extracto y se le adiciona 1 ml del reactivo, y se agita suavemente

Expresión de Resultados: El ensayo da positivo si se observa una coloración roja (++) o precipitado rojo (+++).

- e. Ensayo de Borntrager: Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Así la alícuota del extracto debe evaporarse en baño maría hasta

evaporar el solvente y luego redissolver con 1 ml de cloroformo. Luego se adiciona 1 ml de hidróxido de sodio al 5% en agua; se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta que se separen las fases

Expresión de Resultados: Es positivo el ensayo si la parte superior se torna rojo o rosado. Así, color rosado (++) y rojo (+++).

f. Ensayo de Liberman-Buchard: Reconoce en un extracto la existencia de compuestos esteroidales. La alícuota del extracto se la evapora a baño maría, luego de evaporar el solvente se agrega 1 ml de cloroformo, se adiciona 1 ml de anhídrido acético y se mezcla bien; finalmente por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar

Expresión de Resultados: Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración así: rosas-azul (muy rápido), verde intenso-visible (rápido) y verde oscuro-negro (final de reacción).

g. Ensayo de resinas: Para detectar este tipo de compuesto, se adiciona a 2 ml del extracto, 10 ml de agua destilada

Expresión de Resultados: Si hay un precipitado es un ensayo positivo.

h. Ensayo de Fehling: Evidencia la presencia de azúcares reductores en un extracto. Se procede con una alícuota del extracto en agua, si ésta no se encuentra en agua, se evapora en baño maría la alícuota y se redissuelve con 2 ml de agua destilada. Luego adicionar 2 ml del reactivo de Fehling y calentar en baño de agua por 5 minutos.

Expresión de Resultados: Ensayo positivo si la solución se colorea de rojo o precipitado rojo.

i. Ensayo de la espuma: Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas. De modo que a la alícuota de extracto que se encuentra en alcohol

se le diluye con 5 veces su volumen en agua destilada y se agita fuertemente durante 5 minutos.

Expresión de Resultados: Se considera ensayo positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y es persistente por más de 2 minutos.

- j. **Ensayo del tricloruro férrico:** Evidencia la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto. Se procede obteniendo una alícuota del extracto alcohólico al cual se le añade 3 gotas de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, y se espera hasta que se realice la reacción.

Expresión de Resultados: Si da una coloración rojo-vino hay presencia de compuestos fenólicos en general. Si desarrolla un color verde intenso, hay presencia de taninos del tipo pirocatecólicos. Desarrolla una coloración azul, evidencia la presencia de taninos del tipo pirogalotánicos.

- k. **Ensayo de la ninhidrina:** Permite reconocer en los extractos la existencia de aminoácidos libres o aminas. Se realiza tomando una alícuota del extracto y se lo lleva a baño maría, al residuo que queda se le agrega 2 ml de ninhidrina al 2% en agua, se mezcla y se calienta por 5 minutos en baño de agua.

Expresión de Resultados: Se considera el ensayo positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo.

- l. **Ensayo Shinoda:** Evidencia la presencia de flavonoides en un extracto vegetal. Tomar una alícuota del extracto y diluir con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un trocito de cinta de magnesio metálico. Analizar la reacción y esperar 5 minutos, pasado el lapso de tiempo añadir 1 ml de alcohol amílico y homogenizar las fases. Finalmente se deja reposar hasta que se separen las fases.

Expresión de Resultados: El ensayo será positivo al colorearse el alcohol amílico de amarillo, carmelita, naranja o rojo.

m. Ensayo de Kedde: Reconoce la presencia de glicósidos cardiotónicos. Se realiza tomando una alícuota del extracto y mezclándolo con 1 ml del reactivo de Kedde y se lo deja en reposo por 5 minutos.

Expresión de Resultados: El ensayo será positivo si se desarrolla un color violáceo persistente por 1 hora.

n. Ensayo de antocianidinas: Se procede calentando 2 ml del extracto por 10 minutos con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado, se deja enfriar y se adiciona 1 ml de agua y 2 ml de alcohol amílico. Para finalizar se agita y se deja separar las dos fases.

Expresión de Resultados: La aparición de un color rojo a marrón es indicativa de un ensayo positivo.

2.6 Obtención del aceite esencial de Pumamaqui (*Oreopanax ecuadorensis* Seeman.)

El aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, fue extraído mediante el método de destilación por arrastre de vapor, con el uso del destilador industrial de 5 kilogramos de capacidad, ubicado en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana anteriormente mencionados.

Se realizó primero la limpieza y desinfección del material vegetal como está descrito en el apartado correspondiente.

Posteriormente se acondicionó el destilador, lavándolo con abundante agua y jabón líquido, luego se realizó una limpieza por arrastre de vapor con agua por 2 horas. Con cautela y la certeza de que tanto las mangueras, como la llave del gas están habilitadas y conectadas adecuadamente. Después del lavado se procedió a

colocar 5 kg de hojas de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, se cerró adecuadamente la tapa del destilador y sus perrillas de seguridad, se dejó abierta la llave de agua para que no exista contraflujo y por lo tanto pérdida de compuestos volátiles. Se dejó un tiempo de 4 horas de destilación, abriendo ocasionalmente la llave de salida de vapor de agua, esto con la finalidad de no perder sustancias de naturaleza termolábil.

Luego de transcurridas las 4 horas, con la ayuda de un embudo de separación se procedió a recoger la mezcla líquida del destilador, abriendo la llave de paso del destilador, se colocó el embudo de separación en un soporte universal sostenido por un aro metálico sujetado por una nuez metálica al soporte, se dejó en reposo hasta que las fases se separen. Al estar las fases separadas, se abrió lenta y cuidadosamente la llave del embudo para recoger el aceite en un frasco ámbar de 5 ml de capacidad. Se llevó finalmente el aceite esencial para su almacenamiento en una refrigeradora.

a) Cálculo del Rendimiento del aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

Se calcula aplicando la fórmula:

Ecuación 3. Rendimiento del aceite esencial *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

1000ml..... 100%

0.5ml.....X

X= 0.05% de rendimiento

2.7 Estudio de la actividad antibacteriana del extracto fluido y del aceite esencial de Pumamaqui (*Oreopanax ecuadorensis* Seeman.) mediante el método de difusión modificado en pozo de Kirby-Bauer.

Para la evaluación de la actividad antibacteriana se utilizaron bacterias certificadas de: The American Type Culture Collection con sus siglas de su nombre en inglés (ATCC), las cuales fueron solicitadas y adquiridas en Medibac; su presentación es en hisopos liofilizados KWIK-STICK™ sellado en sobre completamente estériles, las bacterias solicitadas fueron: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, patógenos que causan enfermedades respiratorias. Como control positivo se utilizó Clemizol (penicilina) de concentración un millón UI, producto de laboratorios Laboratorios Industriales Farmacéuticos Ecuatorianos (LIFE) y como control negativo para las pruebas con el extracto fluido se utilizó agua destilada estéril, mientras que para las pruebas con el aceite esencial se utilizó como control negativo Dimetilsulfóxido (DMSO). Para realizar el estudio de la actividad antibacteriana del aceite esencial y extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, frente a las bacterias mencionadas en el acápite anterior, se llevaron a cabo los siguientes 8 pasos:

- a. Activación de las bacterias del hisopo KWIK-STIK™.
- b. Conservación de las cepas bacterianas ATCC en Cryobank.
- c. Preparación del overnight bacteriano.
- d. Preparación del inóculo bacteriano.
- e. Preparación del extracto fluido a 25% y del aceite esencial a concentraciones (5%, 2.5% Y 1.25%).
- f. Preparación del control positivo

- g. Siembra de acuerdo al método de difusión en pozo modificado.
- h. Método de halos de inhibición e interpretación de resultados.

a) Activación de las bacterias del hisopo KWIK-STIK™:

Para la activación de las bacterias en hisopos KWIK-STICK™, se siguió las instrucciones del fabricante (Microbiologics Inc, 2012).

El procedimiento fue el mismo para las cuatro bacterias.

Procedimiento:

Abrir el sobre con cuidado y sacar el tubo plástico que contiene el hisopo KWIK-STICK™, retirar la parte removible de la etiqueta y en la parte superior de la ampolla oprimir hasta que se rompa la ampolla, y el medio que contiene la bacteria ATCC descienda y moje el hisopo. Luego se procede abrir el tubo plástico y extraer el hisopo mojado enseguida se siembra en una caja petri con medio TSA, a excepción de la bacteria *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, la cual se sembró en medio Agar sangre de cordero adquirido a Cultiprep Cia, Ltda. Finalizado el sembrado, retirar el hisopo y colocar en un tubo con caldo TSB, etiquetar el tubo e incubar, y finalmente etiquetar para llevarlo a incubación por 24 horas a una temperatura de 37°C; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se incubó en medio aerobio mientras que *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 y se incubaron en medio anaerobio.

b) Conservación de las cepas bacterianas ATCC en Cryobank:

Esterilizar el asa metálica sometiéndola a fuego con el uso de un mechero, retirar y dejar enfriar el asa para no eliminar a las colonias bacterianas. Ya fría el asa abrir la caja con cepa y coger varias colonias bacterianas, luego introducir el asa

para disolver el cultivo en el medio que contiene el tubo de Cryobank. Agitar por un lapso de 10 minutos para que las bacterias se puedan adherir a las perlas que contiene el tubo Cryobank. Posteriormente con una pipeta estéril remover el medio de cultivo y desechar, finalmente cerrar el tubo, etiquetar y llevar a congelación para utilizarlo cuando sea necesario.

c) Preparación del overnight bacteriano:

Este proceso se realiza en una caja petri sembrada un día anterior, esterilizar previamente 2 tubos de ensayo con caldo TSB por caja con cepa bacteriana. Con la ayuda de un asa metálica esterilizada, coger varias colonias bacterianas e insertar el asa en el tubo con TSB, agitar el asa hasta que el inóculo bacteriano descienda a la base del tubo. Luego retirar el asa y cerrar el tubo, finalmente llevar los tubos con inóculo a incubación por 18 horas a 35°C.

d) Preparación del inóculo bacteriano:

Pasadas las 18 horas, retirar los tubos con el inóculo que se realizó en el overnight y llevar a una centrífuga por 20 minutos a 4000 rpm, esto con la finalidad de obtener un pellet consistente. Después eliminar el sobrenadante y llenar el tubo con suero fisiológico estéril, y agitar en un vórtex hasta observar homogeneidad del inóculo con el suero fisiológico. Previamente calibrar el espectrofotómetro para realizar la lectura de absorbancia, utilizar para las lecturas de turbidez una celda de cuarzo, para el inóculo bacteriano y su lectura en el espectrofotómetro, los parámetros de longitud y absorbancia aplicarlos según el estándar de turbidez de Prat (2006, pág. s.n), los cuales son: “una longitud de 625 nm con una absorbancia de 0.08 a 0.1”, para todas las bacterias a estudiar en esta investigación.

e) Preparación del extracto fluido al 25% de concentración y del aceite esencial a concentraciones de (5%, 2.5% y 1.25%).

Procedimiento para la preparación del extracto fluido a 25%:

Para obtener el extracto al 25% de concentración se aplicó la metodología de Miranda (2001, págs. 58-59).

Empezar realizando los procesos de limpieza y desinfección redactados anteriormente. Obtener 1000 g de droga molida e hidratar previamente con el menstruo (alcohol al 90%) en relación 1:1 evitando que no quede líquido residual en el recipiente, dejar por un tiempo de 30 minutos y pasado este lapso colocar la droga humectada en un percolador y agregar alcohol al 90% hasta cubrir la droga unos centímetros más del volumen del extracto en el percolador, así la relación 1:1 se torna a una relación droga/solvente de 1:2. Dejar percolar por 72 horas. Concluido el lapso de tiempo se recoge 1600 ml de extracto al 25%, envasar en frascos ámbar y almacenar para su posterior uso.

f) Procedimiento para la preparación de las diferentes concentraciones de aceite esencial (5%, 2.5% y 1.25%):

Con la ayuda de una pipeta automática de 1000 ul, tomar 500 ul de aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, depositar en un balón aforado de 10 ml. El aceite esencial que está en el balón aforado mezclarlo con DMSO, hasta la línea de aforo del balón, tapar, agitar y dejar en reposo por 5 minutos; y así obtener el aceite esencial al 5%. Con una pipeta aforada de 5 ml, tomar un volumen de 5 ml del primer balón y traspasar a otro balón aforado de 10 ml y llenar el balón hasta la línea de aforo con DMSO; y así obtener el aceite esencial al 2.5%. Realizar el mismo procedimiento para obtener el aceite al 1.25%. Finalmente luego de dejar reposar los 3 balones, pasar a frascos ámbar pequeños y etiquetarlos.

g) Preparación del control positivo (Clemizol):

Para obtener la concentración deseada se siguió la metodología de García & Silva (2006, pág. 246:247).

La presentación comercial del Clemizol (penicilina) es de 1'000.000 U.I, es decir 600.000 µg/ml, y pretendemos llegar a 80 µg/ml con un volumen de 10 ml.

Cálculos:

Ecuación 4. Concentración control positivo Clemizol

$$C_1V_1= C_2V_2 \text{ despejando tenemos; } V_1 = \frac{C_2V_2}{C_1}$$

Dónde:

C_1 = Concentración inicial

V_1 = Volumen a calcular

C_2 = Concentración final

V_2 = Volumen final

h) Método de siembra por difusión en pozo modificado:

Los frascos boeco con medio TSA para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y con medio BHI para *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, previamente esterilizados mantenerlos a una temperatura de 45°C esto con el fin de controlar la temperatura del medio de cultivo para que no inhiba el crecimiento bacteriano, usar el termómetro para llegar a la temperatura de 45 °C, abrir los frascos y colocar 24 ml de medio de cultivo en una probeta estéril, verter en la caja petri y seguido de eso añadir 1 ml del inóculo bacteriano con una pipeta automática de 1000µl, tapar la caja petri y agitar manualmente de manera suave hasta que se mezcle por completo el inóculo con el medio de cultivo; hacer este procedimiento

por quintuplicado para cada bacteria, extracto y aceite esencial. Luego de tener todas las cajas listas dejar en reposo de 20 a 30 minutos, hasta que se solidifique el medio. Hacer 4 pozos para las cajas que contenían las concentraciones de aceite esencial al 5% y 2.5% más el control (+) y control (-), mientras que se hacen 3 pozos para las cajas con el aceite esencial al 1.25% más el control (+) y control (-) y de igual manera con el extracto al 25% se harán solo 3 pozos. Hacer los pozos con una pipeta Pasteur estéril con diámetro de 6.2 mm y en cada pocillo agregar 50 µl de extracto al 25%, aceite esencial (5%, 2.5% y 1.25%), control positivo (Clemizol) y controles negativos (DMSO en el caso de las placas con aceite esencial y agua destilada estéril en las placas con el extracto). Etiquetar las placas y finalmente llevarlas a incubación a 37°C por 24 horas.

i) Interpretación de los resultados:

Interpretar los resultados basándose en la metodología de Prat (2006, pág. s.n).

Procedimiento:

Pasadas las 18 horas de incubación examinar las placas. Las zonas de inhibición deberán ser circulares en una capa homogénea y uniforme de crecimiento. Mantener las placas petri en un fondo negro no reflectante. Las zonas que son tomadas como resultado positivo serán aquellas en las que no se observa crecimiento visible del microorganismo a excepción del control (-), que por su naturaleza no debe generar halo de inhibición.

Cabe mencionar que si se observa colonias individuales, se puede deber a que el inóculo está muy diluido y se debe repetir la prueba.

Las medidas de los halos de inhibición serán anotadas con el uso de un pie de rey en milímetros, para una mejor interpretación de los resultados.

Hay categorías para su interpretación tomadas de Prat (2006, pág. s.n):

- a) Sensible: diámetro mayor, por encima del cual es sensible (S)
- b) Intermedio: entre ambos diámetros la sensibilidad se considera intermedia o indeterminada (I).
- c) Resistente: un diámetro menor del halo de inhibición, por debajo del cual el microorganismo es resistente (R).

Cabe mencionar que las categorías previamente descritas serán utilizadas únicamente para evaluar la sensibilidad de nuestro control positivo Clemizol sobre los microorganismos de estudio.

A continuación, se evidencia una tabla con la interpretación de los halos de inhibición con las respectivas bacterias y antibióticos que se utilizaron.

Tabla 1. Interpretación para estafilococos

Interpretación para estafilococos				
Antibacteriano	Carga disco (ug)	Diámetro en milímetros		
		R	I	S
Penicilina	10 U	≤ 28	—	≥ 29

Nota: Tomado de (Gamazo, López, & Díaz, 2005)

Tabla 2. Interpretación para estreptococos

Interpretación para estreptococos				
Antibacteriano	Carga disco (ug)	Diámetro en milímetros		
		R	I	S
Penicilina	10 U	≤ 19	-	≥ 28

Nota: Tomado de (Gamazo, López, & Díaz, 2005)

2.8 Análisis estadístico.

Se utilizó el programa estadístico Statistix versión 10, aplicando las pruebas de: Modelo Anova de una vía y Prueba de Tukey All-Pairwise Comparison.

Modelo Anova de una vía:

Método matemático creado para probar la hipótesis de que las medias aritméticas de más de dos grupos poblacionales son iguales. El análisis de la varianza se basa en la descomposición de la variabilidad en dos partes, una parte que es debido a la variabilidad entre las distintas poblaciones y otra parte que puede ser considerada como la variabilidad intrínseca de las observaciones (Yáñez P. , 2007, pág. 60).

Así, los parámetros utilizados para aceptar la hipótesis alterna son:

- $p < \alpha$
- $F > F_t$

Mientras que los parámetros para aceptar la hipótesis nula son:

- $p > \alpha$
- $F < F_t$

Dónde:

p: probabilístico calculado

α : nivel de significancia o error aceptable (0.05)

F: estadístico calculado; F_t : estadístico tabulado.

Capítulo 3

3. Resultados y Discusión

3.1 Rendimiento de aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, mediante el método de destilación por arrastre de vapor.

El rendimiento se calculó, observando la cantidad de aceite obtenido por la capacidad de masa que puede ocupar el destilador, que es de 5000 gramos.

El rendimiento del aceite esencial fue de 0.5 ml por cada 5000 gramos de material vegetal equivalente al 0.05% del total de material vegetal y en referencia a lo manifestado por Alzamora, Morales, Armas & Fernández (2001, pág. 158), quienes en su estudio añaden que un buen rendimiento de obtención de aceite esencial es que “en 100 gramos de material vegetal obtengamos 0.6 ml de aceite esencial correspondientes al 3% del total del material vegetal”, podemos considerar que *Oreopanax ecuadorensis* Seeman posee un rendimiento pobre de componentes volátiles. Sin embargo cabe mencionar que el contenido de componentes volátiles en una planta dependerá de la especie que sea.

3.2 Control de calidad del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

El control de calidad del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, fue realizado a través de:

- a. Tamizaje fitoquímico.
 - b. Densidad relativa.
 - c. Índice de refracción.
 - d. Sólidos totales.
- a) Tamizaje fitoquímico del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

En la tabla 3 se resumen los resultados de cada uno de los ensayos realizados para la determinación de los diferentes compuestos, durante el tamizaje fitoquímico.

Tabla 3. Ensayos realizados en el tamizaje fitoquímico del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

Ensayo Realizado	Compuesto Químico	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	(+++)
Mayer	Alcaloides	(+++)
Wagner	Alcaloides	(++)
Baljet	Lactonas	(-)
Borntager	Quinonas	(+++)
Lieberman-Buchard	Triterpenos	(+++)
Resinas	Resinas	(-)
Fehling	Azúcares Reductores	(+++)
Espuma	Saponinas	(+++)
Tricloruro férrico	Fenoles y taninos	(-)
Ninhidrina	Aminoácidos	(-)
Shinoda	Flavonoides	(-)
Kedde	Cardiotónicos	(-)
Antocianidinas	Antocianidina	(+++)

Nota: Resultados de los ensayos realizados en el tamizaje fitoquímico de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, por, A. González, 2015

Los resultados del tamizaje fitoquímico realizado al extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, evidencia la presencia de componentes químicos. Del total de 14 ensayos realizados se obtuvieron 8 ensayos positivos con un porcentaje del 57.12%, mientras que el 42.88% corresponde a los ensayos en los que se apreció la ausencia del componente químico en la planta. Los resultados obtenidos no se pueden comparar ya que no hay la suficiente información sobre estudios de tamizaje fitoquímico realizados a la misma especie.

b) Densidad Relativa

Los resultados se presentan en la tabla a continuación, los cuales fueron calculados siguiendo la metodología del apartado correspondiente.

Tabla 4. Densidad relativa del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

	Lectura			
	1	2	3	\bar{x}
Peso del picnómetro limpio en gramos (m)	26,6695	26,6738	26,6797	26,6743333
Peso del picnómetro con analito en gramos (m1)	34,0534	33,6281	34,2718	33,9844333
Peso del picnómetro con agua destilada (m2)	36,0068	35,5929	35,9124	35,8373667
Densidad relativa (g/ml)	0,797781666			

Nota: Valores obtenidos del cálculo de la densidad en relación masa/volumen, por A. González, 2015

La densidad obtenida del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman a 25°C es de 0.79 g/ml y es menor a la densidad del agua a 25 °C con un valor de 0.99 g/ml; lo que significa la presencia de compuestos volátiles presentes en el extracto y que en consecuencia estos flotarán sobre el agua (Ortuño, 2006). Sin embargo el resultado obtenido no se lo puede comparar debido a la ausencia de estudios realizados a la misma especie.

c) Índice de Refracción

Los resultados se manifiestan en la siguiente tabla, los cuales fueron calculados siguiendo la metodología del apartado correspondiente.

Tabla 5. Índice de refracción de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

Repetición	Extracto Concentración 25%	
	IR	Brix
1	1,368	22.5
2	1,37	23.5
3	1,369	23
Resultado	1,369	23

Nota: Valores obtenidos de la lectura del refractómetro, por A. González, 2015

El extracto al 25% de concentración dio un índice de refracción de 1.369. No existen datos bibliográficos que permitan comparar con otros estudios.

La concentración de azúcares se mide en grados Brix, los cuales son definidos únicamente a temperatura de 20°C. Si la solución a 20°C tiene 30° Brix significa que el líquido contiene 30% de sacarosa (Suárez, 2003). Por los resultados obtenidos se evidencia que el extracto posee un 23% de sacarosa.

d) Sólidos totales

Los resultados presentados en la tabla se obtuvieron mediante la ecuación descrita en el apartado correspondiente.

Tabla 6. Sólidos totales de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

Cápsula 1	Lectura			
	1	2	3	\bar{x}
Peso de la cápsula vacía en gramos (P)	25,9852	25,9877	25,9764	25,9831
Peso de la cápsula más el remanente en gramos (Pr)	26,0904	26,1026	26,1142667	26,1024222
Volumen de la muestra en ml (V)	5	5	5	5
Sólidos totales en %	2,386444444			

Nota: Valor de sólidos totales presentes en el extracto en porcentaje, por A. González, 2015

La presencia de sólidos totales en el extracto al 25% fue de 2.386%, esto se debe a la existencia de materia que permanece suspendida en el agua y se logra visualizar, luego de evaporar y secar el extracto, dicha materia sobrante puede ser de origen orgánico o inorgánico (Carpio , Hernández, & Duque, 2007).

3.3 Actividad antibacteriana del extracto y aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman.

Se realizaron dos ensayos para evaluar la actividad antibacteriana, los cuales fueron: extracto fluido de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman al 25% de concentración y aceite esencial al 5%, 2.5% y 1.25% de concentración.

3.3.1 Extracto al 25% de concentración en cepas bacterianas:

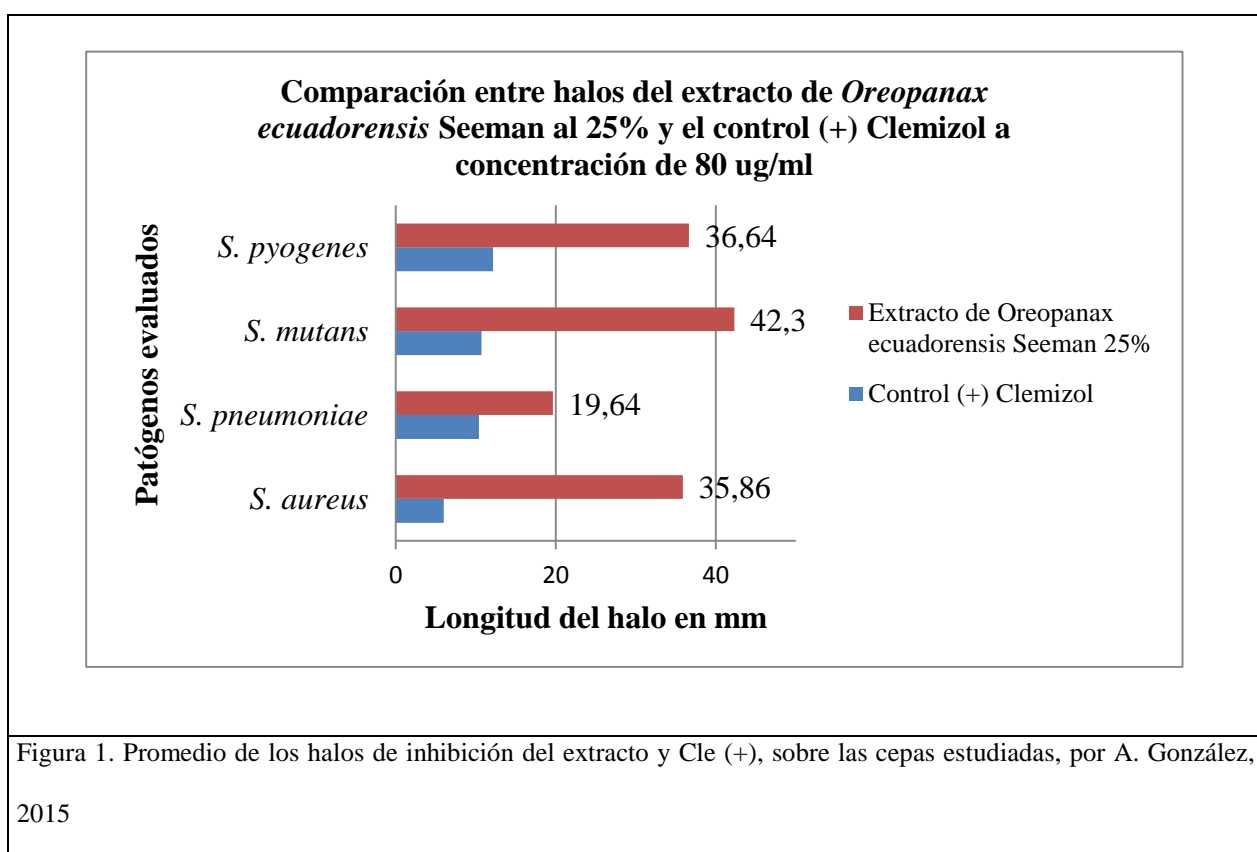
Se obtuvieron los resultados siguiendo la metodología del apartado correspondiente; en la siguiente tabla se detalla los resultados obtenidos con el extracto al 25%.

Tabla 7. Valores en mm del promedio de las 5 repeticiones, de la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman al 25%, control (+) y control (-) frente a las bacterias en estudio.

	Halo en mm Extracto al 25%	Halo en mm Blanco (+) Clemizol concentración de 80 ug/ml	Halo en mm Blanco (-) H2O destilada estéril
Promedio 5 repeticiones	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	35.9	6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10.4	19.6	6
<i>Streptococcus mutans</i>	10.9	42.1	6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	12.1	36.6	6

Nota: Resultados de los halos de inhibición del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 por, A. González. 2015.

Los resultados alcanzados se visualizana continuación:



Los resultados obtenidos para el extracto fluido de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, reflejó una actividad antibacteriana promedio de entre 10.4 a 10.7 mm de diámetro en los halos de inhibición para *Streptococcus mutans* ATCC 25175, y *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 presentó halos de inhibición promedio de 12.14 mm de diámetro, mientras que para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 presentó inhibición bacteriana en un promedio de 6 mm. Cabe mencionar que los 6 mm de diámetro corresponden a la longitud del pozo donde se difundió el extracto.

Así podemos concluir que el extracto fluido de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, no tiene efecto sobre bacterias gram positivas.

El agua destilada estéril utilizada en todos los ensayos con las cuatro bacterias y en las cinco repeticiones, como control negativo no produjo actividad inhibitoria, demostrando que al utilizarlo como testigo negativo no influye sobre los halos de inhibición.

3.3.2 Evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman a las concentraciones de 5%, 2.5% y 1.25% en cepas bacterianas.

En la tabla 8 se muestra los resultados promedio de las cinco repeticiones de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, a las diferentes concentraciones (5%, 2.5% y 1.25%), control (+) Clemizol, control (-) DMSO (dimetilsulfóxido) frente a las bacterias en estudio.

Tabla 8. Valores en mm del promedio de las 5 repeticiones, de la evaluación de la actividad antibacteriana de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, al 5%, 2.5%, 1.25%, control (+) y control (-) DMSO frente a las bacterias en estudio.

	Halo en mm aceite esencial al 5%	Halo en mm aceite esencial al 2.5%	Halo en mm aceite esencial al 1.25%	Halo en mm Control (+) Clemizol concentración de 80 ug/ml	Halo en mm Control (-) DMSO
Promedio 5 repeticiones	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	6	6	47.7	6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6	6	6	20.3	6
<i>Streptococcus mutans</i>	6	6	6	41.7	6
<i>Streptococcus pyogenes</i>	6	6	6	35.1	6

Nota: Resultados de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Streptococcus mutans* 25175 y *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, por A. González. 2015.

Los resultados obtenidos para las concentraciones al 5% y 2.5% se muestran en la siguiente figura:

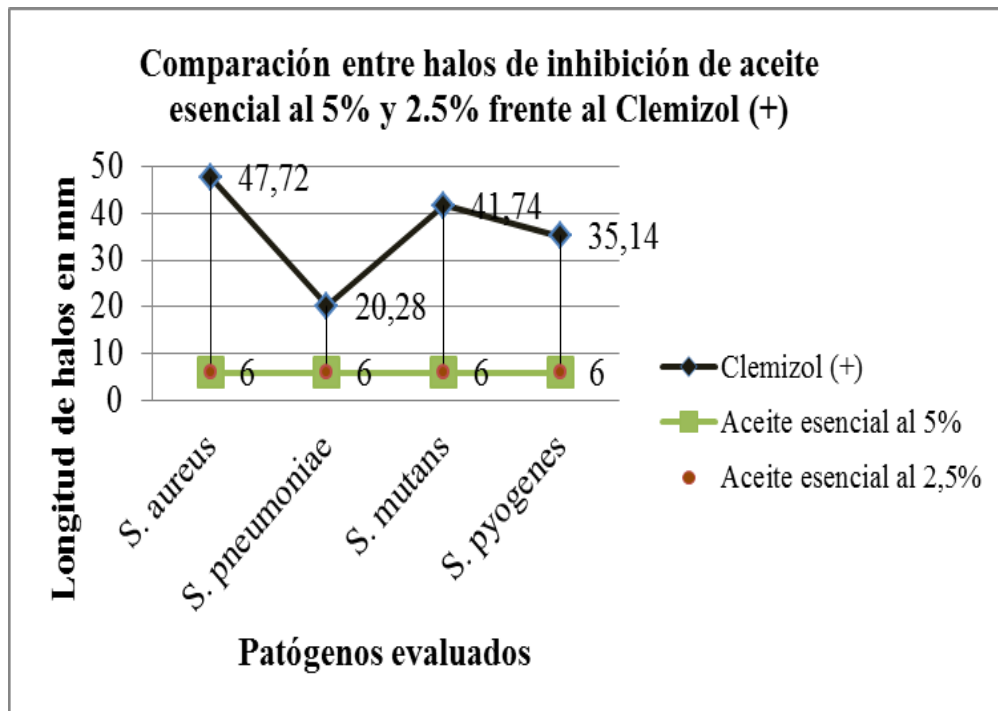


Figura 2. Promedio de los halos de inhibición del aceite esencial a 5% y 2.5% de concentración y Cle (+), sobre las cepas estudiadas, por A. González, 2015.

Los resultados obtenidos para la concentración al 1.25% se pueden observar a continuación:

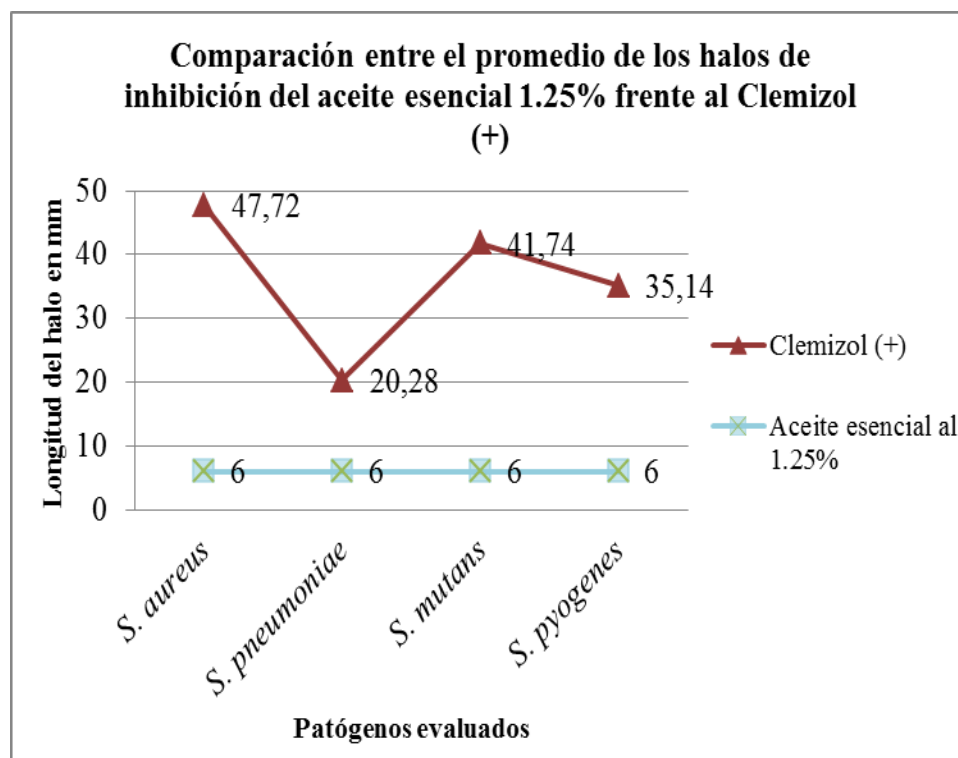


Figura 3. Promedio de los halos de inhibición del aceite esencial al 1.25% de concentración y Cle (+), sobre las cepas estudiadas, por A. González, 2015.

3.4 Análisis estadístico

Para la presente investigación se utilizó el programa estadístico “STATISTIX versión 10”, para realizar los diferentes análisis de los resultados obtenidos con el extracto fluido y el aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

3.4.1 Aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman

Análisis de varianza de una vía (ANOVA una vía)

En el análisis estadístico ANOVA de una vía se consideró a las cuatro bacterias como: Saure, Spneu, Smuta y Spyog respectivamente para las tres concentraciones de aceite esencial: 5%, 2.5% y 1.25%.

Tabla 9. Análisis de varianza ANOVA de una vía del aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman al 5% de concentración frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Anova de una vía para: Saure Spneu Smuta Spyog					
Fuente	DF	SS	MS	F	P
Entre	3	6.00000	6.00000	M	M
Con	16	6.00000	6.00000		
Total	19	6.00000			
Gran media	6	CV	M		

Nota: Análisis estadístico de los resultados de la investigación, por: A. González, 2015.

Tabla 10. Análisis de varianza ANOVA de una vía del aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman al 2.5% de concentración frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Anova de una vía para: Saure Spneu Smuta Spyog					
Fuente	DF	SS	MS	F	P
Entre	3	6.00000	6.00000	M	M
Con	16	6.00000	6.00000		
Total	19	6.00000			
Gran media	6	CV	M		

Nota: Análisis estadístico de los resultados de la investigación, por: A. González, 2015.

Tabla 11. Análisis de varianza ANOVA de una vía del aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman al 2.5% de concentración frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615

Anova de una vía para: Saure Spneu Smuta Spyog					
Fuente	DF	SS	MS	F	P
Entre	3	6.00000	6.00000	M	M
Con	16	6.00000	6.00000		
Total	19	6.00000			
Gran media	6	CV	M		

Nota: Análisis estadístico de los resultados de la investigación, por: A. González, 2015.

El análisis presentó como resultado un probabilístico de $p= 0.001$, siendo así el valor de α (0.05) mayor que p ; para todas las cepas de estudio, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* 19615.

Así podemos señalar que el aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, no presentó, actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* 19615.

Cabe mencionar que esto puede deberse a ciertas razones, una de las ellas puede ser por la composición química del aceite esencial y lo difícil de atribuir la actividad antibacteriana a un compuesto en específico, probablemente debido a la complejidad de su composición y también por los efectos sinérgicos que pueden

existir entre los principales componentes (Arancibia, Naspi, Pucci, & Arce, 2010, pág. 124:125).

El dimetilsulfóxido (DMSO) utilizado en todos los ensayos con las cuatro bacterias y en las cinco repeticiones como control negativo no produjo actividad inhibitoria, demostrando que al utilizarlo como diluyente no influye sobre los halos de inhibición.

Con lo señalado no se permite aceptar la hipótesis planteada, la cual dice: El aceite esencial de pumamaqui (*Oreopanax ecuadorensis* Seeman), si tiene efecto antibacteriano frente a: *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC: 19615, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619 y *Streptococcus mutans* ATCC: 25175.

3.4.2 Extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman

Se consideró las 4 bacterias como: Saure, Spneu, Smuta y Spyog respectivamente.

Tabla 12. Análisis de varianza ANOVA de una vía del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Anova de una vía para: Saure Spneu Smuta Spyog					
Fuente	DF	SS	MS	F	P
Entre	3	472.946	157.649	646.10	0.0000
Dentro	16	3.904	0.244		
Total	19	476.850			
Gran media	8.3500	CV	5.92		
Variable		Media			
Saure		6.0000			
Spneu		10.400			
Smuta		10.860			
Spyog		12.140			

Nota: Análisis estadístico de los resultados de la investigación, por: A. González, 2015

Tabla 13. Test de Tukey HSD ALL-Pairwise Comparisons del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman y halos de inhibición de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Prueba de Tukey HSD All-Pairwise Comparisons				
Variable	Media	Grupos Homogéneos		
Spyog	12.140	A		
Smutan	10.860		B	
Spneu	10.400		B	
Saure	6.0000			C
Alfa	0.05	Error estándar de comparación		0.3124
Valor crítico Q	4.047	Valor crítico de comparación		0.8940

Nota: Análisis estadístico de los resultados de la investigación, por: A. González, 2015

Dónde: Saure = *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Smut = *Streptococcus mutans* ATCC 25175, Spneu = *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y Spyog = *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

Mientras que para el extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, se consideró la única concentración frente a las cuatro bacterias de estudio.

El análisis dio como resultado un probabilístico de $p= 0.0000$ siendo menor al α (0.05), dando como resultado la actividad antibacteriana del extracto frente a *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 con un halo de inhibición promedio de 10.4 mm, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 un halo promedio de 10.9 mm y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 un halo promedio de 12.1 mm, siendo únicamente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 la cepa que mostró resistencia hacia el extracto con un halo de inhibición promedio de 6 mm, generando el incumplimiento del parámetro establecido.

El test a posteriori de Tukey para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 mostró una mayor cifra de inhibición en la concentración al 25% del extracto con 12.1

mm de diámetro en el halo, evidenciando homogeneidad con las demás repeticiones, siendo así el grupo A.

Para *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fueron clasificadas en grupo B, al no presentar diferencias significativas entre la dimensión de sus halos promedio que oscilaron entre 10.4 y 10.9 mm.

Mientras que, el grupo C es para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con un diámetro promedio de 6 mm, demostrando resistencia hacia el extracto fluido.

Mientras que, el Clemizol (Penicilina) utilizado en los ensayos con aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, con las cuatro bacterias, en las tres concentraciones (5%, 2.5% y 1.25%) y en las cinco repeticiones respectivamente como control positivo, dio resultados de inhibición bacteriana, con halos de inhibición promedio para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de 47.7 mm, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 de 41.7 mm, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 de 20.3 mm, y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 de 35.1 mm, en tanto que, para los ensayos con extracto fluido al 25% también presentó inhibición bacteriana con valores promedio en sus halos de inhibición de: 32.76 mm para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, 19.6 mm para *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, 42.1 mm para *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y 36.6 mm para *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 (ver tabla 1 y tabla 2), y así concordar con lo dicho por (Pizarro, Las Heras , & Hidalgo , 1985) y (Alvarez, Cáceres, & Gavilanes, 1995), quienes en su estudio concluyen que el Clemizol tiene una efectiva actividad antibacteriana frente a bacterias causantes de enfermedades respiratorias.

Conclusiones

La especie *Oreopanax ecuadorensis* Seeman presentó un rendimiento de aceite esencial de 0.05 % del total del material vegetal-

Las concentraciones evaluadas de aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman (5%, 2.5% y 1.25%), no presentaron diámetros mayores de 6 mm, mostrando que el aceite esencial no presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615.

La concentración del extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman al 25%, mostró un impacto máximo de 12.1 mm de inhibición bacteriana, lo cual refleja que el extracto presenta componentes químicos que pudieren afectar al crecimiento bacteriano.

Solo *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 y *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619, presentaron sensibilidad con valores promedio entre 10 a 12 mm de diámetro en sus halos de inhibición, mientras que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, no presentó valor en sus halos de inhibición, determinando que el extracto de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, no tiene actividad frente a esta bacteria.

Recomendaciones

Evaluar el extracto y aceite esencial de *Oreopanax ecuadorensis* Seeman, para combatir bacterias gram negativas como: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumoniae* y *Pseudomona aeruginosa*, causantes de enfermedades respiratorias.

Continuar con la evaluación del efecto antibacteriano utilizando otras especies endémicas del Ecuador como: Floripondio (*Brugmansia incana* Ruiz & Pav), o Salverreal (*Lepechinia rufocampii* Epling & Mathias), especies que según Cerón son las más utilizadas dentro de la Etnofarmacia Andina.

Referencias

- Aguilar, Z., Ulloa, C., & Hidalgo, P. (2009). *Guía de Plantas Útiles de los Páramos de Zuleta, Ecuador*. Quito: PPA-EcoCiencia.
- Alvarez, M., Cáceres, L., & Gavilanes, G. (1995). *Evaluación del Manejo de las IRA en menores de 5 años por los médicos de los centros y subcentros urbanos del Ministerio de Salud Pública en Quito, Ecuador*. Obtenido de Organización Panamericana de la Salud: <http://www.ops.org.bo>
- Alzamora, L., Morales, L., Armas, L., & Fernández, G. (2001). Medicina Tradicional en el Perú: Actividad Antimicrobiana in vitro de los Aceites Esenciales Extraídos de Algunas Plantas Aromáticas. *Anales de la Facultad de Medicina: Universidad Mayor de San Marcos*, 156-161.
- Alzate, L. M., Arteaga, D., & Jaramillo, Y. (2011). *Determinación de las propiedades conservantes del fruto del algarrobo (Hymenaea courbaril linneaus) para la industria de alimentos*. Obtenido de Repository La Sallista: <http://www.repository.lasallista.edu.co>
- Arancibia, L., Naspi, C., Pucci, G., & Arce, M. (2010). Aromatic plants from Patagonia: chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Senecio mustersii* and *S. subpanduratus*. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 123-126.
- Ayala, S., & Vásquez, T. (Noviembre de 2014). *Evaluación de la Actividad Antifúngica in vitro del Marco (Ambrosia arobrescens Mill.) y Matico*

(Aristeguietia glutinosa Lam.) sobre Hongos Patógenos Causantes de la Dermatomicosis. Obtenido de Repositorio Universidad Politécnica Salesiana:
<http://dspace.ups.edu.ec>

Balslev, H., Navarrete, H., de la Torre, L., & Macía, M. (2008). *Enciclopedia de las Plantas útiles del Ecuador.* Quito: Aarhus.

Bandoni, A. (2002). *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica.* Buenos Aires: CYTED.

Bortowiski, A., Bueno, M., & Rolim, E. (2005). Aspectos Microbiológicos da Cárie Dental. *Revista Salusvita*, 239-252.

Botella, A., & Bermejo, M. (2004). *Manual del Auxiliar de Farmacia.* Madrid: Editorial MAD.

Butler, M. (2009). The Role of Natural Product Chemistry in Drug Discovery. *Journal of Natural Products*, 2141-2153.

Calles, J. A. (Julio de 2007). *Biondicadores terrestres y acuáticos para las microcuencas de los ríos Illangama y Alumbre, provincia Bolívar.* Obtenido de Fundación Ecuatoriana de Estudios Ecológicos-EcoCiencia:
<http://pdf.usaid.gov>

Cañigueral, S., Dellacassa, E., & Bandoni, A. (2003). Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo? *Acta Farmacológica Bonaerense*, 265-278.

- Carpio , T., Hernández, A., & Duque, M. (2007). Sólidos totales secados a 103 grados - 105 grados centígrados. *Subdirección de Hidrología- Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental*, 1-8.
- Carrión, A., & García, C. (2010). *Preparación de Extractos Vegetales: Determinación de Eficiencia Metódica*. Obtenido de Repositorio Universidad de Cuenca: <http://dspace.ucuenca.edu.ec>
- Cerón, C. (2006). Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos. *Botánica Económica de los Andes Centrales*, 285-293.
- Chiriboga, X. (1995). Investigación Fitoquímica de Plantas con Actividad Antibacteriana y Antimicótica. En P. N. Escaleras, *La Medicina Tradicional en el Ecuador* (pág. 109). Quito: Corporación Editorial Nacional.
- Corrales, L., Castillo, A., & Melo, A. (2013). Evaluación del potencial antibacterial in vitro de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas. *Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 51-63.
- Cruz, A. (2001). *Antibióticos Naturales*. México: Impresores Fernández.
- Cubillo, P. (2005). *Diagnóstico del Cantón Quero*. Obtenido de Repositorio Escuela Politécnica del Ejército: <http://repositorio.espe.edu.ec>
- Diario El Universo. (4 de Marzo de 2009). *Más cosméticos serán de producción nacional*. Obtenido de Diario El Universo: <http://www.eluniverso.com>

Espinoza, A. (2012). *Situación de la población ecuatoriana frente a enfermedades respiratorias*. Obtenido de Ministerio de Salud Pública:
<http://www.salud.gob.ec>

FLACSO. (2013). *Situación económica y ambiental del Ecuador en un entorno de crisis internacional*. Obtenido de Facultad Latinoamericana de Ciencias Sociales Sede Ecuador: <http://www.flacsoandes.edu.ec>

Forbes, B. (2007). *Bailey & Scott; diagnóstico microbiológico*. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Gamazo, C., López, I., & Díaz, R. (2005). *Manual Práctico de Microbiología. Tercera Edición*. Barcelona: MASSON C.A.

García , L. (2006). *Actividad Antibacteriana de Extractos Vegetales en Cepas Hospitalarias de Staphylococcus aureus con Resistencia Múltiple*. Torreón: Biblioteca Universitaria.

García, M. J., & Silva, M. d. (2006). *Técnico Especialista en Laboratorio: Temario específico Vol 2*. Sevilla: Editorial MAD.

González, M. (2013). Neumonía: Principal Cuasa de Morbilidad en el Ecuador. *Revista Coyuntural del INEC*, 3-20.

Kuskoski, E., Roseane, F., García, A., & Troncoso, A. (2005). Propiedades Químicas y Farmacológicas del Fruto Guaraná (*Paullinia cupana*). *Revist de la Facultad de Química Farmacéutica*, 45-52.

- Lamarque, A., Zygadlo, J., Iabuckas, D., López, L., Torres, M., & Maestri, D. (2008). *Fundamentos Teórico-Prácticos de Química Orgánica*. Córdoba: Encuentro Grupo Editor.
- León, A., & Robles, A. (2009). *Estudio de Prefactibilidad para la Instalación de una Planta Extractora de Aceites Esenciales*. Obtenido de Repositorio Universidad Técnica del Norte: <http://www.repositorio.utn.edu.ec>
- Llop, A. (2001). *Microbiología y Parasitología Médica: Tomo I*. La Habana: bvscuba.
- Macedo, M., & Mateos, S. (2008). *Infecciones respiratorias*. Obtenido de Temas de Bacteriología y Virología Médica: <http://www.higiene.edu.uy>
- Marcalla, Á. (Enero de 2010). *Estudio del Uso de las Plantas Medicinales y su Conservación en la Cooperativa Cotopilaló, Razuyacu-Corazón y la interacción con los Shamanes de la Unión de Organizaciones Campesinas del Norte de Cotopaxi "UNOCANC"*. Obtenido de Repositorio Universidad San Francisco de Quito: <http://www.repositorio.usfq.edu.ec>
- Merck Sharp and Dohme. (2012). *Infecciones causadas por cocos*. Obtenido de Merck Sharp and Dohme: <http://www.msdsalud.es>
- Microbiologics Inc. (2012). *how to use KWIK-STICK microorganism: Microbiologics Inc.* Obtenido de Microbiologics Inc.: <http://microbiologics.com>

- Ministerio de Ambiente. (2013). *Fabricación de Productos Farmacéuticos, Sustancias Químicas Medicinales y Productos Botánicos*. Obtenido de Ministerio de Ambiente: <http://www.ambiente.gob.ec>
- Miranda, M. (2001). *Farmacognosia y Productos Naturales*. La Habana: Félix Varela.
- Muñoz, O., Montes, M., & Wilkomirsky, T. (2004). *Plantas medicinales de uso en Chile, Química y farmacología*. Santiago: Editorial Universitaria.
- Navarro, C., Ortega, T., García, J., Stubing, G., & Bautista, J. (26 de Enero de 2005). *Plantas medicinales y complementos de la dieta en las afecciones respiratorias*. Obtenido de Centro de Investigación sobre Fitoterapia: <http://www.infito.com>
- Ojeda, J. C., Oviedo, E., & Salas, L. (2013). Streptococcus mutans and dental caries. *Revista CES Odontología*, 44-56.
- Ordóñez, L., Arbeláez, M., & Prado, L. (2004). *Manejo de Semillas Forestales Nativas de la Sierra del Ecuador y Norte del Perú*. Quito: Ecopar-Fosefor.
- Organización Mundial de la Salud. (2001). *Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <http://www.who.int>
- Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esencial, aromas y perfumes*. Madrid: AIYANA.

- Pizarro, D., Las Heras , S., & Hidalgo , C. (1985). Clemizol Penicilina versus Penicilina Sódica en Infecciones Respiratorias Agudas Bajas no complicadas del niño. *Revista Chilena de Infectología*, 103-109.
- Prado, V. (2001). Conceptos microbiológicos de Streptococcus pneumoniae. *Revista Chilena de Infectología*, 6-9.
- Prat, S. (2006). *Prueba de Susceptibilidad Antimicrobiana por Difusión en Agar: Instituto de Salud Pública de Chile*. Obtenido de Instituto de Salud Pública de Chile: <http://www.ispch.cl>
- Rhoades, R. (2006). *Desarrollo con Identidad Comunidad, Cultura y Sustentabilidad en los Andes*. Quito: Abya-Yala.
- Rios, M., & De la Cruz, R. (2008). Conocimiento tradicional y plantas útiles del Ecuador: saberes y prácticas. En M. Rios, R. De la Cruz, & A. Mora, *Plantas útiles del Ecuador: uso y abuso* (págs. 7-29). Quito: Abya-Yala.
- Ríos, M., Kosiol, M., & Granda, G. (2007). *Plantas útiles del Ecuador: Aplicaciones, retos y perspectivas*. Quito: Abya-Yala.
- Rivera , M. (1998). Estreptococco Beta hemolítico grupo A (Streptococcus pyogenes). *Revista Honduras Pediátrica*, 47-51.
- Rojas, J., García , A., & López, A. (2005). Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 28-32.

- Rosillo, M. (2012). *Determinación fisicoquímica y evaluación de la actividad biológica del aceite esencial de Bachcaris latifolia (Asteraceae) de la Provincia de Loja*. Obtenido de Repositorio Universidad Particular de Loja: <http://www.dspace.utpl.edu.ec>
- Sharapin, N. (2000). Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. *Convenio Andrés Bello*, 24-26.
- Suárez, D. (2003). *Guía de Procesos para la Elaboración de Néctares, Mermeladas, Uvas pasas y Vinos*. Bogotá: Convenio Andrés Bello.
- Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2008). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *CEFA: Temas de Bacteriología y Virología Médica*, 663-671.
- Todd, J. (2005). Infecciones estafilocócicas. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 438-443.
- Torre, L., Navarrete, P., Muriel, M., & Balslev, H. (2008). *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Quito: Herbario QCA & Herbario AAU.
- Uriel, E. (20 de Mayo de 2012). *Análisis Físico-Químico de Alimentos*. Obtenido de biolifepuno: <http://www.biolifepuno.blogspot.com>
- Vega, P. (15 de Octubre de 2013). *Uso de plantas con propiedades medicinales en la comunidad del cantón Yacuambi durante el período Julio-Diciembre 2011*. Obtenido de Repositorio Universidad Particular de Loja: <http://www.dspace.utpl.edu.ec>

Yáñez, L. (2011). *Establecimiento de protocolo de regeneración in vitro de Pumamaqui Oreopanax ecuadorensis mediante cultivo de tejidos*. Obtenido de Repositorio Escuela Politécnica del Ejército: <http://www.repositorio.espe.edu.ec>

Yáñez, P. (2007). *Biometría y Bioestadística Fundamentales. Primera Edición*. Quito.

Zaruma, M. A., & Illescas, J. P. (2014). *Determinación del Efecto Antibacteriano de Aceites Esenciales Obtenidos de la Familia Myracaceae y Lamiceae*. Obtenido de Repositorio Universidad de Cuenca: <http://www.dspace.ucuenca.edu.ec>

Zepeda, C., & Gaído, J. (1977). Susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* a los antimicrobianos. *Revista Médica Nacional de Honduras*, 29-32.

Anexos

Anexo 1. Plantas medicinales silvestres y de los mercados en los andes del Ecuador. *=Endémica, M= Plantas medicinales de mercados, S= Plantas medicinales silvestres

Nombre Científico	Nombre Común	M	S	Afección que trata
<i>Agave americana</i> L.	Cabuyo negro		X	Gripe, tos, reumas, resfrío
<i>Agrostemma insignis</i> L.	Oreja de burro	X		Resfrío
<i>Amaranthus caudatus</i> L.	Sangoracha	X		Antifebril, resfrío, nervios
<i>Apium graveolens</i> L.	Apio	X		Estomacal, presión, resfrío
<i>*Aristeguetia glutinosa</i> (Lam.) R.M King & H. Rob	Matico	X	X	Resfrío, cicatrizante, inflamación
<i>Borago officinalis</i> L.	Borraja	X		Tos, gripe, antifebril
<i>Cestrum peruvianum</i> Willd. Ex Roem. & Schult	Saúco	X		Caspa, resfrío
<i>Chuquiraga jussieui</i> J.F. Gmel	Chuquiragua	X	X	Resfrío, tos, gripe, paludismo
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Eucalipto	X		Resfrío, gripe
<i>Juglans neotropica</i> Diels	Nogal	X	X	Resfrío, reumas, cefalea
<i>Morella parvifolia</i> (Benth) Parra-O.	Laurel	X	X	Resfrío, limpiados
<i>*Oreopanax ecuadorensis</i> Seem.	Pumamaqui	X		Resfrío, baño caliente
<i>Oxalis lotoides</i> Kunth	Ocayuyo		X	Granos, resfrío, estomacal
<i>Salvia rumicifolia</i> Kunth	Salverreal	X		Reumas, artritis Resfrío, tos
<i>Sambucus nigra</i> L.	Tilo	X		Tos, resfrío bronquitis
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Tomillo	X		Resfrío, estomacal
<i>Urtica leptophylla</i> Kunth	Ortiga machi	X	X	Cefalea, limpiados, resfrío
<i>Violeta odorata</i> L.	Violeta	X		Tos, gripe, bronquitis

Nota: Herbario Alfredo Paredes (QAP), Escuela de Biología de la Universidad Central del Ecuador,

2006, p

**Anexo 2. Certificado del Herbario Nacional de la PUCE de *Oreopanax
ecuadorensis* Seeman.**

Quito, 22 de Septiembre del 2015

CERTIFICADO DE IDENTIFICACIÓN

El espécimen examinado corresponden a:

***Oreopanax ecuadorensis* Seem.**

- Clase: Equisetopsida C. Agardh
- Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.
- Superorden: Asteranae Takht.
- Orden: Apiales Nakai
- Familia: Araliaceae Juss.
- Género: *Oreopanax* Decne. & Planch.
- especie: *ecuadorensis* Seem.
- Nombre común: puma maqui



Álvaro Pérez

Álvaro J. Pérez

Curador de Angiospermas, Herbario QCA

Anexo 3. Pesaje del material vegetal molido, previo al proceso de percolación



Nota: Investigación, por: Andrés González, 2015