

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO**

**CARRERA: INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS
NATURALES**

**Tesis previa a la obtención del título de: INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA
DE LOS RECURSOS NATURALES**

**TEMA:
EFICACIA ANTIBACTERIANA *in vitro* DE MARCO (*Ambrosia arborescens*
Mill.) Y PAICO (*Chenopodium ambrosioides* L.) EN UNA FORMULACIÓN
COSMÉTICA**

**AUTORES:
MARCO VINICIO IBARRA MARTÍNEZ
ERIKA ALEJANDRA PAREDES PAREDES**

**DIRECTORA:
TATIANA DE LOS ÁNGELES MOSQUERA TAYUPANTA**

Quito, julio de 2013

**DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO
DEL TRABAJO DE GRADO**

Nosotros, Marco Vinicio Ibarra Martínez y Erika Alejandra Paredes Paredes, autorizamos a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de grado y su reproducción sin fines de lucro.

Además declaramos que los conceptos y análisis desarrollados y las conclusiones del presente trabajo son de exclusiva responsabilidad de los autores.

Quito, julio 2013

f: _____

Marco Vinicio Ibarra Martínez

C.I: 1720878329

f: _____

Erika Alejandra Paredes Paredes

C.I: 1715240949

DEDICATORIA

A Dios, por brindarme todas las oportunidades en la vida, que siempre me han dejado grandes experiencias y enseñanzas.

A mi mami, por ser mi inspiración para ser una mejor persona, a mi hermana por ser un pilar en mi vida y mi consejera sin juzgarme jamás y a mi papá por siempre apoyarme en mis decisiones.

A mis tíos, tías y primos por estar siempre pendientes de mí y ser un gran apoyo en mi vida.

A mi abuelita, de quien siempre he aprendido que en esta vida hay que ser guerreros y por darme todo el cariño que solo ella me ha podido dar.

Marco Vinicio Ibarra Martínez

A Dios, por darme sabiduría para tomar las mejores decisiones.

A mis padres, por el amor infinito y el apoyo incondicional. Porque son mi ejemplo, mi fuerza y el tesoro más valioso que tengo a mi lado.

A mi angelito, por ser la persona más especial de mi vida, mi segunda madre.

A Emilia e Ivanna, porque son la luz de mi corazón.

Erika Alejandra Paredes Paredes

AGRADECIMIENTO

Deseamos mostrar nuestros más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas sin las cuales, este trabajo no habría visto la luz.

A la Universidad Politécnica Salesiana, que en el transcurso de nuestra carrera nos ha dado las herramientas necesarias para ser excelentes profesionales.

A nuestra directora de tesis, Ingeniera Tatiana Mosquera, por ofrecernos su valioso tiempo, su apoyo incondicional y todos sus conocimientos, consejos y opiniones compartidos durante el transcurso de la realización de este trabajo de investigación.

Al CIVABI por brindar unas adecuadas instalaciones, especialmente a su coordinadora Ingeniera María Belén Aldás MSc. quien junto a sus ayudantes de laboratorio, fueron de gran asistencia, incentivo y apoyo en el día a día.

A los profesores Q.F. Wilson Tapia, Químico Christian Larenas, Bqf. Pablo Coba MSc, Magister Patricio Yáñez y Doctora María Elena Maldonado; por sus ilustraciones y ayuda desinteresada que enriquecieron nuestros conocimientos durante el desarrollo de la tesis y toda la carrera universitaria.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
ANTECEDENTES	3
1.1. Justificación	3
1.2. Hipótesis	4
1.3. Objetivos	4
1.4. Variables	5
1.5. Indicadores	5
1.6. Población y Muestra	6
CAPÍTULO II	7
MARCO TEÓRICO	7
2.1. La Etnomedicina Andina	7
2.2. Plantas medicinales	7
2.2.1. Plantas medicinales usadas para el tratamiento de infecciones e infestaciones	8
2.3. Marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	8
2.3.1. Clasificación taxonómica	9
2.3.2. Generalidades	9
2.3.3. Descripción botánica y hábitat	9
2.3.4. Usos	10
2.3.5. Composición química	11
2.3.6. Farmacología y actividad biológica	12
2.3.7. Toxicidad	12
2.4. Paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	13
2.4.1. Clasificación taxonómica	13

2.4.2. Generalidades	14
2.4.3. Descripción botánica y hábitat	14
2.4.4. Usos	14
2.4.5. Composición química	16
2.4.6. Farmacología y actividad biológica	16
2.4.7. Toxicidad	17
2.5. Valoración de las drogas	17
2.5.1. Métodos de percepción	17
2.5.2. Métodos físico – químicos	17
2.5.2.1. Métodos físico - químicos cuantitativos	18
2.5.2.2. Métodos físico - químicos cualitativos	20
2.6. Métodos de extracción de principios activos	20
2.7. Área de desarrollo de las plantas de interés	21
2.8. La piel humana	22
2.8.1. Microbiología de la piel humana	22
2.8.2. Bacterias colonizadoras de la piel	23
2.9. Bacterias grampositivas	23
2.9.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	24
2.9.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	25
2.9.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	26
2.9.2.1. <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	26
2.10. Bacterias gramnegativas	27
2.10.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
2.10.1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	28
2.10.2. <i>Escherichia coli</i>	29

2.10.2.1. <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	30
2.11. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana	31
2.11.1. Categorías interpretativas de las bacterias	31
2.11.2. Antibiograma	32
2.12. Jabones	33
2.12.1. Química del jabón	33
2.12.2. Jabón líquido	34
CAPÍTULO III	36
MARCO METODOLÓGICO	36
3.1. Control de calidad de la droga	36
3.1.1. Determinación de materias extrañas	36
3.1.2. Métodos físico – químicos para el análisis de la droga cruda	37
3.1.2.1. Determinación de cenizas totales	37
3.1.2.2. Determinación de cenizas solubles en agua	38
3.1.2.3. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico	39
3.1.2.4. Determinación del contenido de humedad	40
3.1.2.5. Determinación de sustancias solubles	41
3.2. Obtención del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) por medio de la técnica de percolación	42
3.3. Obtención del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) por medio de la técnica de destilación	45
3.4. Control de calidad para el análisis del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	45
3.4.1. Determinación de la densidad relativa	46
3.4.2. Determinación del índice de refracción	46
3.4.3. Determinación del pH	47

3.4.4. Determinación de los sólidos totales	48
3.5. Control de calidad para el análisis del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	49
3.5.1. Determinación de la densidad relativa	49
3.5.2. Determinación del índice de refracción	49
3.6. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) por medio de difusión en disco o antibiograma según Kirby-Bauer	49
3.6.1. Revitalización de las cepas bacterianas	51
3.6.2. Elaboración de las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) y del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	52
3.6.3. Elaboración del inóculo bacteriano	53
3.6.4. Inoculación en las placas	55
3.6.5. Análisis estadístico	56
3.7. Elaboración del jabón líquido antibacteriano	57
3.8. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de algunas marcas comerciales por medio de difusión en disco o antibiograma según Kirby-Bauer	59
3.9. Control de calidad del jabón líquido antibacteriano elaborado	60
3.9.1. Características sensoriales	60
3.9.2. Características físico – químicas	60
3.9.2.1. Determinación del pH	60
3.9.2.2. Determinación de la densidad	60
CAPÍTULO IV	61
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	61
4.1. Control de calidad de la droga	61

4.1.1. Determinación de materia extraña	61
4.1.2. Determinación de cenizas totales	62
4.1.3. Determinación de cenizas solubles en agua	64
4.1.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico	66
4.1.5. Determinación del contenido de humedad en droga fresca	68
4.1.6. Determinación del contenido de humedad en droga seca	69
4.1.7. Determinación de sustancias solubles	70
4.2. Rendimiento del proceso para la obtención del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	71
4.3. Rendimiento del proceso para la obtención del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	72
4.4. Control de calidad para el análisis del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	73
4.4.1. Determinación de la densidad relativa	73
4.4.2. Determinación del índice de refracción	74
4.4.3. Determinación del pH	75
4.4.4. Determinación de los sólidos totales	75
4.5. Control de calidad para el análisis del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	76
4.5.1. Determinación de la densidad relativa	76
4.5.2. Determinación del índice de refracción	77
4.6. Elaboración de las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) y del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	78
4.7. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) por medio de difusión en disco o antibiograma	79

4.7.1. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) en <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	79
4.7.1.1. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) en <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	82
4.7.1.2. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) en <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	84
4.7.2. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	86
4.7.2.1. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	88
4.7.2.2. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	90
4.7.3. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) en <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	92
4.7.3.1. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) en <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	94
4.7.3.2. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) en <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	96
4.7.4. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) en <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	98
4.7.4.1. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) en <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	101
4.7.4.2. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) en <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	103

4.8. Elaboración del jabón líquido antibacteriano	105
4.9. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano por medio de difusión en disco o antibiograma	106
4.9.1. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de tres marcas comerciales en <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	106
4.9.1.1. Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	108
4.9.2. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de tres marcas comerciales en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	110
4.9.2.1. Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	112
4.9.3. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de tres marcas comerciales en <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	113
4.9.3.1. Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	116
4.9.4. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de tres marcas comerciales en <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	118
4.9.4.1. Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	123
4.10. Control de calidad del jabón líquido antibacteriano elaborado	125
4.10.1. Características sensoriales	125
4.10.2. Características físico – químicas	126
4.10.2.1. Determinación del pH	126
4.10.2.2. Determinación de la densidad	127
CONCLUSIONES	130
RECOMENDACIONES	133
LISTA DE REFERENCIAS	134

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica del marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	9
Tabla 2 Clasificación taxonómica del paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	13
Tabla 3 Clasificación taxonómica de <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Tabla 4 Clasificación taxonómica de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	26
Tabla 5 Clasificación taxonómica de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28
Tabla 6 Clasificación taxonómica de <i>Escherichia coli</i>	29
Tabla 7 Formulación de los jabones líquidos antibacterianos	58
Tabla 8 Determinación de materia extraña para el paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	62
Tabla 9 Determinación de materia extraña para el marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	62
Tabla 10 Determinación de cenizas totales del paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	63
Tabla 11 Determinación de cenizas totales del marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	64
Tabla 12 Determinación de cenizas solubles en agua del paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	65
Tabla 13 Determinación de cenizas solubles en agua del marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	66
Tabla 14 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	67
Tabla 15 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	68
Tabla 16 Determinación del contenido de humedad del paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	69
Tabla 17 Determinación del contenido de humedad del marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	70

Tabla 18 Determinación de sustancias solubles del paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	71
Tabla 19 Determinación de sustancias solubles del marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	71
Tabla 20 Masas para obtener el rendimiento del proceso para la obtención del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	72
Tabla 21 Diferencias de los procesos para la elaboración del extracto de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	73
Tabla 22 Datos para obtener el rendimiento del proceso de extracción del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	73
Tabla 23 Diferencias de los procesos para la extracción del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	74
Tabla 24 Determinación de la densidad relativa del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	74
Tabla 25 Datos para la determinación del índice de refracción del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	75
Tabla 26 Datos para la determinación del pH del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	76
Tabla 27 Determinación de los sólidos totales del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	76
Tabla 28 Determinación de la densidad relativa del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	77
Tabla 29 Datos para la determinación del índice de refracción del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	78
Tabla 30 Datos para la elaboración de las concentraciones de aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	79
Tabla 31 Datos para la elaboración de las concentraciones de extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	79

Tabla 32 Diámetro de los halos obtenidos en mm del blanco positivo y blanco negativo de <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229 para el extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y el aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	80
Tabla 33 Diámetro de los halos obtenidos en mm de las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) para <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	81
Tabla 34 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	83
Tabla 35 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	84
Tabla 36 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	85
Tabla 37 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	86
Tabla 38 Diámetro de los halos obtenidos en mm del blanco positivo y blanco negativo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429 para el extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	87
Tabla 39 Diámetro de los halos obtenidos en mm de las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	87
Tabla 40 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	89
Tabla 41 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	90

Tabla 42 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	91
Tabla 43 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	92
Tabla 44 Diámetro de los halos obtenidos en mm del blanco positivo y blanco negativo de <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990 para el extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	93
Tabla 45 Diámetro de los halos obtenidos en mm de las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) para <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	93
Tabla 46 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	95
Tabla 47 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) frente <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	96
Tabla 48 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	97
Tabla 49 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	98
Tabla 50 Diámetro de los halos obtenidos en mm del blanco positivo y blanco negativo de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600 para el extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	99

Tabla 51 Diámetro de los halos obtenidos en mm de las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) y aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	100
Tabla 52 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	102
Tabla 53 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	103
Tabla 54 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	104
Tabla 55 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	105
Tabla 56 Diámetro de los halos obtenidos en mm de los seis jabones líquidos antibacterianos para <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	107
Tabla 57 Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	109
Tabla 58 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	110
Tabla 59 Diámetro de los halos obtenidos en mm de los seis jabones líquidos antibacterianos para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	111
Tabla 60 Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	113
Tabla 61 Diámetro de los halos obtenidos en mm de los seis jabones líquidos antibacterianos para <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	114
Tabla 62 Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	117

Tabla 63 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	118
Tabla 64 Diámetro de los halos obtenidos en mm de los seis jabones líquidos antibacterianos para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	120
Tabla 65 Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	124
Tabla 66 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para los seis jabones líquidos antibacterianos en <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	125
Tabla 67 Características sensoriales de la formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado	126
Tabla 68 Características sensoriales de la formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado	127
Tabla 69 Características sensoriales de la formulación 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado	127
Tabla 70 pH de la formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado	127
Tabla 71 Determinación de la densidad relativa de la fórmula 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado	128
Tabla 72 Determinación de la densidad relativa de la fórmula 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado	129
Tabla 73 Determinación de la densidad relativa de la fórmula 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado	129

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	8
Figura 2 Paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	13
Figura 3 Mapa político de la provincia de Tungurahua	21
Figura 4 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	25
Figura 5 <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	27
Figura 6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	29
Figura 7 <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	31
Figura 8 Proceso de percolación del marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	44
Figura 9 Revitalización de cepas bacterianas ATCC	51
Figura 10 Conservación de cepas bacterianas ATCC	52
Figura 11 Concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	53
Figura 12 Concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	53
Figura 13 Elaboración del inóculo bacteriano	54
Figura 14 Inoculación de las bacterias ATCC en las placas	56
Figura 15 Elaboración de jabón líquido antibacteriano	59
Figura 16 Halos obtenidos de las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) para <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	81
Figura 17 Halos obtenidos de las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) para <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	82
Figura 18 Halos obtenidos de las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	88
Figura 19 Halos obtenidos de las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	88
Figura 20 Halos obtenidos de las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) para <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	94

Figura 21 Halos obtenidos de las concentraciones del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) para <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	94
Figura 22 Halos obtenidos de las concentraciones del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) para <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	100
Figura 23 Halos obtenidos de las concentraciones de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600 para el aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	101
Figura 24 Halos obtenidos de las tres marcas comerciales de jabones líquidos antibacterianos frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	108
Figura 25 Halos obtenidos de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	108
Figura 26 Halos obtenidos de las tres marcas comerciales de jabones líquidos antibacterianos frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	111
Figura 27 Halos obtenidos de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	112
Figura 28 Halos obtenidos de Marca 2 al 100 % frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	115
Figura 29 Halos obtenidos de Marca 2 al 50 % frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	115
Figura 30 Halos obtenidos de Marca 1 y Marca 3 frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	116
Figura 31 Halos obtenidos de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	116
Figura 32 Halos obtenidos de Marca 2 al 50 % frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	121
Figura 33 Halos obtenidos de Marca 2 al 25 % frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	121
Figura 34 Halos obtenidos de Marca 2 al 12,5 % frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	122
Figura 35 Halos obtenidos de Marca 1 y Marca 3 frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	122

Figura 36 Halos obtenidos de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 123

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Porcentaje de materias extrañas según su clasificación	36
Ecuación 2 Porcentaje de cenizas totales	37
Ecuación 3 Porcentaje de cenizas solubles en agua	38
Ecuación 4 Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico	40
Ecuación 5 Porcentaje de pérdida en peso por desecación	41
Ecuación 6 Porcentaje de sustancias solubles	42
Ecuación 7 Rendimiento del extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	44
Ecuación 8 Rendimiento del aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	45
Ecuación 9 Densidad relativa	46
Ecuación 10 Cantidad de sólidos totales	48

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Certificado de Análisis de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12600	139
Anexo 2 Certificado de Análisis de <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	140
Anexo 3 Certificado de Análisis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 19429	141
Anexo 4 Certificado de Análisis de <i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	142
Anexo 5 Ficha técnica de Producto Terminado de Jabón Líquido para manos y cuerpo de la Industria INDULATEX S.A.	143

RESUMEN

El presente estudio tiene por objeto evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* de *Ambrosia arborescens* Mill. y *Chenopodium ambrosioides* L. en una formulación cosmética. Para llevar a cabo la presente investigación, primero se realizó el control de calidad de las drogas y posteriormente, se obtuvo el aceite esencial de *Chenopodium ambrosioides* L. por medio de arrastre de vapor y el extracto blando de *Ambrosia arborescens* Mill., por percolación.

La técnica del antibiograma o difusión en disco se realizó con diferentes concentraciones de aceite esencial y extracto blando frente a: *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429 y *Escherichia coli* ATCC 11229. Con la medida de los halos de inhibición obtenidos y mediante el análisis de varianza no paramétrico de una vía de Kruskal-Wallis y el test *a posteriori* (All-Pairwise Comparisons Test), en el software Statistix 8.0, se proyectaron las concentraciones más sobresalientes para realizar las tres formulaciones de jabón líquido antibacteriano, los cuales fueron comparados con tres jabones líquidos comerciales a través de la técnica de antibiograma y de la prueba estadística de Kruskal-Wallis, cuyos resultados indicaron que los halos de inhibición de los jabones líquidos elaborados se parecen a dos de las marcas comerciales.

Del trabajo realizado, se concluye que para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429 y *Escherichia coli* ATCC 11229, no se evidenció una potencialización de los principios activos cuando se mezclaron en la formulación, en tanto que para *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 si se evidenció una potencialización.

PALABRAS CLAVE: antibacteriana, *Chenopodium ambrosioides*, *Ambrosia arborescens*, antibiograma, *in vitro*, jabón.

ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the *in vitro* antibacterial activity of *Ambrosia arborescens* Mill. and *Chenopodium ambrosioides* L. in a cosmetic formulation. To carry out this investigation, the first step was to perform the quality control of drugs and later, to get the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. by steam distillation and to get the soft extract of *Ambrosia arborescens* Mill., by percolation.

The test of disc diffusion sensitivity was performed by the use of different concentrations of essential oil and soft extract against: *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429 and *Escherichia coli* ATCC 11229. With the measurement of the inhibition halos and by the Kruskal –Wallis one-way analysis of variance (nonparametric test) and the *a posteriori* test (All-Pairwise Comparisons Test) in Statistix 8.0 software, the outstanding concentrations were projected to make the three formulations of antibacterial liquid soap, which were compared with three commercial liquid soaps through antibiogram technique and Kruskal-Wallis test. The results indicated that the inhibition halos of liquid soaps resemble two of the trademarks.

From this work we reach the conclusion that for *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429 and *Escherichia coli* ATCC 11229, there was not and evidence of potentiation of the active ingredients when they were mixed in the formulation, while for *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 there was and evidence of potentiation.

KEYWORDS: antibacterial, *Chenopodium ambrosioides*, *Ambrosia arborescens*, antibiogram, *in vitro*, soap.

INTRODUCCIÓN

Las diversas enfermedades ocasionadas por agentes patógenos e inadecuados comportamientos en los distintos estilos de vida del hombre moderno, está creando la necesidad de buscar nuevas alternativas de tratamiento, con una tendencia de volver a las costumbres ancestrales del uso de plantas para la cura de sus enfermedades, debido a las múltiples ventajas que aporta tanto en el aspecto medicinal como económico (Mori del Águila, y otros, 2010).

Según Vera (2008), las raíces de la medicina tradicional en el Ecuador pertenecen a un pasado de más de 10 mil años y su vigencia ha continuado a lo largo de cinco siglos de regímenes coloniales y republicanos. Dicha permanencia ha sido sostenida por los pueblos de más bajos recursos: indios, mestizos, montubios y campesinos, quienes han encontrado en la medicina tradicional, una alternativa menos costosa y más coherente con su cosmovisión.

De acuerdo a los aportes de De la Torre y Navarrete (2008), en el Ecuador se ha reportado un porcentaje del 26 % del uso de plantas como bactericidas. Según Gupta (1995), el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) son plantas nativas del Ecuador con amplio potencial antibacteriano, por lo que la presente investigación está centrada en aprovechar esta característica de las dos drogas vegetales en estudio, para una aplicación industrial.

El estudio de la actividad antibacteriana de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) para la elaboración del jabón líquido antibacteriano, implica procedimientos que inician con una serie de ensayos físico – químicos, que permitirán determinar la calidad del material vegetal que será utilizado en la extracción de sus principios activos.

Mediante el antibiograma, lo que se logra obtener son halos de inhibición; indicadores de que, efectivamente tanto el extracto blando de marco (*Ambrosia*

arborescens Mill.) como el aceite esencial paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) tienen propiedad antibacteriana a determinadas concentraciones sobre las cepas ATCC a ser utilizadas.

Con los resultados de las medidas de los halos de inhibición y con la ayuda de una prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis y el test *a posteriori* (All-Pairwise Comparisons Test), se determinarán las mejores combinaciones de las concentraciones para la formulación del jabón líquido antibacteriano; con los productos elaborados, se procederá a realizar el ensayo del antibiograma para verificar que el producto cosmético posee actividad antibacterial.

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

1.1. Justificación

El Ecuador es un país con una geografía muy particular que determina la existencia de una gran variabilidad de pisos climáticos, por lo que posee aproximadamente el 10 % de todas las especies de plantas del mundo (Naranjo y Escaleras, 1995). En sus amplias listas de flora y fauna se citan especies endémicas, nativas e introducidas, además goza de una gran riqueza ancestral en la utilización de plantas como medicamentos empleadas para un sinnúmero de enfermedades; haciéndolas parte de la cultura de los pueblos ecuatorianos.

El Ecuador, por ser un país pluricultural y poseer elevada biodiversidad, se convierte en un país con un elevado potencial etnobotánico y específicamente en el uso de las plantas como bactericidas, se han reportado un 26 % del uso de las mismas con tal objetivo (De la Torre y Navarrete, 2008). Las plantas que tratan infecciones causadas por virus y bacterias son las más comunes y en el caso del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), plantas nativas del Ecuador, poseen un gran potencial antimicrobiano por lo que pueden ser usadas en muchos campos industriales (Gupta, 1995).

En la actualidad, el mercado cada vez más competitivo, siempre busca productos con valor agregado, por tal motivo se han desarrollado algunos tipos de jabones que buscan complacer a un mercado exigente, pero lo que no se ha proyectado es la innovación de jabones líquidos antibacterianos con componentes de origen natural y que sean nativos del Ecuador. El porcentaje de producción de jabones de uso cosmético en el Ecuador es apenas del 5,47 %, mientras que la producción de jabones para lavar ropa es del 31,42 % (Ales, 2008), esto indica que las industrias ecuatorianas han enfocado su producción de jabones más a los de uso de lavado de ropa que a los de uso cosmético.

Debido a estos precedentes la presente investigación es de gran importancia, ya que lo que pretendemos es la elaboración de un jabón líquido antibacteriano; cuyos

principios activos sean nativos del Ecuador generando una alternativa en el campo de la fitocosmética de nuestro país.

1.2. Hipótesis

Hipótesis alternativa (Ha)

El extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) presentan propiedad antibacteriana.

La formulación cosmética de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) presenta propiedad antibacteriana.

Hipótesis nula (Ho)

El extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) no presentan propiedad antibacteriana.

La formulación cosmética de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) no presenta propiedad antibacteriana.

1.3. Objetivos

Objetivo General

Comprobar la eficacia antibacteriana *in vitro* de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) de una formulación cosmética.

Objetivos Específicos

- Realizar el control de calidad de la droga: marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.).
- Obtener el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) mediante el método de percolación, y el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) mediante el método de destilación por arrastre de vapor.
- Evaluar la efectividad antimicrobiana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600,

Pseudomonas aeruginosa ATCC 19429, *Escherichia coli* ATCC 11229 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.

- Realizar la formulación del jabón líquido antibacteriano utilizando concentraciones definidas de extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.).
- Evaluar la efectividad antimicrobiana del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429, *Escherichia coli* ATCC 11229 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.
- Realizar el control de calidad del jabón líquido antibacteriano elaborado.
- Evaluar la efectividad antimicrobiana del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a otras marcas comerciales.

1.4. Variables

Variable independiente

Las diferentes concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) a usarse en la elaboración de la forma cosmética (jabón líquido).

Variable dependiente

Los microorganismos sobre los cuales se va a determinar la actividad antibacteriana tanto del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) como de la formulación cosmética; éstos microorganismos son: *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429, *Escherichia coli* ATCC 11229 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.

1.5. Indicadores

El antibiograma es la técnica sobre la que se basarán los indicadores; por lo tanto los halos de inhibición son los indicadores de la eficiencia bacteriana del extracto blando

de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y de la formulación cosmética.

1.6. Población y Muestra

Nuestra investigación se centra en el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), debido a que existen estudios en los que la propiedad antibacteriana de estas dos plantas son comprobadas frente a *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*, que son microorganismos considerados importantes dentro de este estudio.

De acuerdo a los aportes de Sánchez y Sáenz (2006), los microorganismos colonizadores de la piel pertenecen a la flora transitoria que está compuesta por microorganismos que caen en la piel procedente del ambiente, estando entre los más comunes, estreptococos y bacilos gramnegativos (*E.coli*, *Proteus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas spp.*, etc.); y flora residente, que está compuesta por microorganismos que habitan las capas más superficiales de la piel, compuesta por estafilococos plasmocoagulasa negativos y positivos, especies del género *Corynebacterium* y especies de *Acinetobacter*.

Debido a lo expuesto en los párrafos anteriores, para la realización de las pruebas antibacterianas de nuestra investigación del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y del jabón líquido antibacteriano elaborado; se va a tomar en cuenta cepas que son representativas de cada género tanto de la flora residente: *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990; como de la flora transitoria de la piel: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429 y *Escherichia coli* ATCC 11229.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. La Etnomedicina Andina

La etnomedicina es el estudio de las medicinas tradicionales de los pueblos (Cabieses, 1993). El alivio y curación de muchas enfermedades desde siempre dependió del uso apropiado de plantas medicinales y también, se requirió de la ayuda del shamán o brujo, el hombre superior que conocía el mundo de espíritus, y que en sus rituales incluía plantas con alto poder de sanación.

Debido a esto, se debe reconocer que la medicina parte de las plantas medicinales, cuyos principios activos han sido el arranque para el desarrollo de medicamentos muy importantes en la mejora de la calidad de vida de las personas.

Refiriéndose a la medicina en el área Andina, esta región fue y sigue siendo asiento de numerosos pueblos aborígenes y cada uno tiene su propia medicina tradicional, aunque hay algunas características semejantes entre ellas. Es uno de los centros de domesticación, adaptación y difusión de plantas más importantes del continente americano (Jorgensen y León-Yáñez, 1999).

En cuanto a la medicina en Ecuador, mencionan Jorgensen y León-Yáñez (1999) que las más de 17000 especies de plantas vasculares que existen son el resultado de una historia de adaptaciones a medios diversos, de coevolución con otros organismos y de la dinámica de la superficie terrestre. Esta gran diversidad de plantas ecuatorianas proviene de especies propias de los Andes Tropicales, de zonas tropicales y subtropicales de América, tropicales de Asia, Malasia, África, así como de zonas templadas de los hemisferios boreal y austral, incluso de las regiones frías del elemento austral, como la subantártica y antártica y de plantas cosmopolitas.

2.2. Plantas medicinales

Afirma Cruz (2009), que plantas medicinales, conformadas por sus partes o extractos, son las que se utilizan como drogas y medicamentos para el tratamiento de alguna afección que padece un individuo o animal y que también son precursoras para la síntesis químico – farmacéuticas.

2.2.1. Plantas medicinales usadas para el tratamiento de infecciones e infestaciones

Las plantas para tratar infecciones e infestaciones constituyen el 26 % del total de especies medicinales (De la Torre y Navarrete, 2008). En esta categoría se incluyen las especies utilizadas para tratar afecciones causadas por bacterias, virus, hongos, protozoos, platelmintos, nemátodos, anélidos y artrópodos.

Las plantas que tratan infecciones causadas por virus y bacterias son las más comunes (63 %) (De la Torre y Navarrete, 2008), entre ellas se cuentan las utilizadas para curar abscesos con pus, gonorrea, herpes, sarampión, erisipela, neumonías y otras enfermedades infectocontagiosas.

A continuación se describen las plantas nativas ecuatorianas que serán utilizadas para la elaboración del jabón líquido antibacteriano.

2.3. Marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

También citada como *Franseria artemisioides* Willd. (Jorgensen y León-Yáñez, 1999).

Figura 1 Marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

2.3.1. Clasificación taxonómica

Tabla 1 Clasificación taxonómica del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

Reino	Plantae
Phylum	Spermatophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	<i>Ambrosia</i>
Epíteto Específico	<i>arborescens</i>
Autor Epíteto Específico	Mill.

Fuente: Vera, 2008.

2.3.2. Generalidades

Nombres comunes: Marku, markuyura (kichwa), altamira, altamisa, altamiso, artemisia, mano de marco, marco (castellano) (De la Torre y Navarrete , 2008).

Hábito: subarbusto, arbusto o arbolito.

Origen: nativa.

Etnias: Kichwa de la Sierra, Mestiza.

2.3.3. Descripción botánica y hábitat

Arbustos, sufrútices o hierbas de 0.5 – 3 m; toda la planta con glándulas, aromática. Hojas alternas, pinnatidisectas. Flores masculinas y femeninas en cabezuelas separadas a menudo en la misma planta. Cabezuelas masculinas en espigas o racimos terminales; involucreo cupuliforme, brácteas lateralmente connatas; receptáculo con páleas. Flores masculinas modificadas, cáliz o vilano ausente, corola hialina, campanulada, 5-lobulada; estambres 5 alternados con los lóbulos de la corola; pistilodio reducido. Cabezuelas femeninas en grupos axilares en las hojas y sosteniendo los racimos masculinos; brácteas unidas y formando un receptáculo en forma de vaso; ápices de las brácteas espiniscentes, brácteas arregladas en varias formas o dispersas en el involucreo durante la fructificación; páleas ausentes; una a pocas flores. Flores femeninas reducidas, perianto ausente, androceo ausente; ovario

maduro obovado, estilo corto, estigma lobulado, superficies estigmáticas papilosas, exertas a través de los ápices espinosos del involucro. Aquenios prismáticos, con pelos uniseriados, formando complejos con el involucro.

Crece frecuentemente en terrenos abandonados de la región internandina entre los 2250 a 3500 msnm, la planta ha sido utilizada ampliamente por los aborígenes mucho tiempo antes de la conquista española (Gupta, 1995).

2.3.4. Usos

De acuerdo a los aportes de De la Torre y Navarrete (2008) acerca de los usos del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.); la madera es materia prima para la elaboración de estacas, escobas y artesanías. Las ramas sirven como escoba, especialmente para barrer los hornos de pan (Kichwa de la Sierra – Cotopaxi, etnia no especificada – Pichincha, Cañar, Azuay).

Las hojas se usan para elaborar artesanías (Kichwa de la Sierra – Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Cañar) y como forraje para los burros (Kichwa de la Sierra, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Cañar).

Con las hojas en infusión se lavan pies y axilas para combatir el mal olor (etnia no especificada – Chimborazo, Cañar). Se usa para baños calientes (etnia no especificada – Chimborazo).

Las hojas y ramas se usan como insecticida, para eliminar principalmente pulgas, piojos, moscos y chinches de las viviendas (Kichwa de la Sierra – Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Cañar, mestiza – Pichincha, etnia no especificada – Manabí, Carchi, Imbabura, Pichincha, Tungurahua, Chimborazo, Cañar, Azuay). Trata las hemorroides, retrasos en la menstruación, reumatismo, disentería, dolores musculares y catarros sanguinolentos (etnia no especificada – Carchi).

Sirve como abortivo (etnia no especificada – Pichincha). Se usa, junto con la ortiga hembra, santa maría, eucalipto y aliso para curar el “mal aire” (Kichwa de la Sierra – Tungurahua).

Combate la formación de abscesos (etnia no especificada – Chimborazo). La planta hervida se usa para regular la presión sanguínea alta (Kichwa de la Sierra – Loja). La planta macerada se usa como antimicótico (etnia no especificada – Tungurahua).

El zumo de las hojas frescas evita la formación de lesiones internas producidas por golpes, se usa para sanar los pezones partidos de las madres en lactancia. Utilizada para tratar los granos en la piel y para quitar el frío (mestiza – Pichincha). La infusión o el zumo de las hojas se utilizan para tratar la sarna (Kichwa de la Sierra – Imbabura, mestiza – Pichincha, etnia no especificada – Azuay).

Contiene aceites esenciales de propiedades hipotensoras. La planta en infusión se usa para estimular el flujo menstrual (etnia no especificada – Pichincha). El jugo de las hojas tiernas, mezclado con gotas de limón expulsa las lombrices intestinales. Las hojas se usan para propiciar la labor de parto y aliviar los dolores en el parto y posparto, así como en bebidas, emplastos y baños, para aumentar el flujo menstrual y para tratar granos, sarpullidos, dolor de hígado, hemorroides o almorranas, reumatismo, caries y cólicos.

2.3.5. Composición química

En el trabajo elaborado por Vera (2008) se menciona que en el año 2007, en el Laboratorio del Departamento de Química, Bioorgánica y Biofarmacia de la Universidad de Pisa, se realizó un estudio para determinar la composición del aceite esencial de *Ambrosia arborescens* Mill. y sus propiedades.

El estudio determinó que el aceite tenía una composición rica en monoterpenos en pequeñas concentraciones, destacándose una concentración muy importante de la crisantenona y de sesquiterpenos como: γ -curcumeno y germacreno D; también se mencionó la presencia de 3-careno, limoneno, p-cimeno, cariofileno, aloaromadendrano, humuleno, isoborneol, cariofileno-epóxido, carotol, germacranos.

A partir de estos estudios realizados, Vera (2008) llevó a cabo un estudio químico y biológico en base a cuatro extractos que se obtuvieron con solventes de polaridad creciente (hexano, cloroformo, cloroformo – metanol y metanol); este estudio condujo al aislamiento y completa caracterización de 5 sesquiterpen lactonas y 5 compuestos fenólicos: benzyl β -D-glucopyranoside ($C_{13}H_{18}O_6$) 0,25%; 3',4',5,7-tetrahydroxy-3,6,8-trimethoxyflavone ($C_{18}H_{16}O_9$) 4,5%; limocitrin ($C_{17}H_{14}O_8$) 8,5 %; salicylic acid ($C_7H_6O_3$) 0,62 % y p-hydroxyacetophenone ($C_8H_8O_2$) 0,8 %.

En otro estudio realizado por Cruz (2009), también se menciona que el aceite esencial de *Ambrosia arborescens* Mill. contiene alcaloides encontrados principalmente en las flores femeninas; damsina y coronofilina en el extracto metanólico de las semillas; psilostachina en el extracto hexánico de las hojas y dióxido de bisaboleno, 1,4-germacradien-6-ol y varias sesquiterpenlactonas.

2.3.6. Farmacología y actividad biológica

Son muy pocos los estudios realizados. *In vitro* se han encontrado que la coronofilina posee actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus oxford*, así como contra ciertos insectos dípteros (Naranjo y Crespo, 1997). La damsina en cambio tiene actividad moluscida y antitumoral (Cruz, 2009).

De sus compuestos, el shiramool y la coronopilina exhiben una potente actividad antialimentaria contra plagas que infestan cereales. Por otro lado, la psilostachina es activa frente a áfidos (*Macrosiphum euphorbiae*) y ácaros (*Tetranychus urticae*) (Cruz, 2009).

Otros estudios indican que el marco *Ambrosia arborescens* Mill. presenta acción bactericida frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y sobre *Candida albicans* a 1000 mg/mL (Gupta, 1995).

2.3.7. Toxicidad

La presencia de sesquiterpenos y monoterpenos en el aceite esencial manifiesta el poder tóxico que posee esta especie, contribuyendo a esta actividad la presencia de otros monoterpenos como las tujonas. Este resultado motivó a realizar pruebas de actividad alelopática frente a otras especies, dando un resultado positivo; pudiendo estar esta actividad simultáneamente relacionada con funciones de protección o defensa de las plantas contra ataques de microorganismos e insectos (Vera, 2008).

La tujona que es un compuesto altamente tóxico a niveles de 30 mg/kg produce convulsiones y lesiones en la corteza cerebral (Valle y Bernardo, 2000).

2.4. Paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

También citada como *Chenopodium payco* (Jorgensen y León-Yáñez, 1999).

Figura 2 Paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

2.4.1. Clasificación taxonómica

Tabla 2 Clasificación taxonómica del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Reino	Plantae
División	Tracheobionta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Caryophyllales
Familia	Chenopodiaceae
Subfamilia	Chenopodioideae
Género	<i>Chenopodium</i>
Epíteto Específico	<i>ambrosioides</i>
Autor Epíteto Específico	L.

Fuente: Science, 2008.

2.4.2. Generalidades

Nombres comunes: Payku tape (kichwa–chafi`ki), payku (kichwa), paicconomemba, paicconomembaseje`pa (a`ingae); huasieco (paicoca), epazote, paico, solitaria, té de México (castellano), wormsed (inglés), nerbrena blanca (castellano – lengua no especificada), baiko, subrosia (lengua no especificada) (De la Torre y Navarrete , 2008).

Hábito: hierba terrestre.

Origen: nativa.

Etnias: Chachi, Kichwa de la Sierra, Cofán, Secoya, Kichwa del Oriente, Mestiza.

2.4.3. Descripción botánica y hábitat

Es una hierba anual o perenne, erguida o ascendente, fuertemente olorosa, de 40 cm a 1 m de alto. De tallo simple o ramificado. Hojas pecioladas, oblongas y lanceoladas, de 3 a 10 cm de largo por 1 a 5 cm de ancho, gradualmente reducidas hacia la parte superior, subenteras o sinuado – dentadas. Inflorescencia en forma de espigas con numerosas flores, dispuestas en panícula piramidal, con o sin hojas interpuestas.

Tiene un perianto de 1mm de largo, glanduloso. Semilla horizontal o vertical, negra brillante y lisa, de unos 0.7 mm de diámetro, margen obtuso.

Está ampliamente distribuida en las regiones templadas y tropicales. Crece espontáneamente en los bordes de los jardines y parques. Se adapta bien a terrenos arcillosos, arenosos, xerofíticos y subxerofíticos. Su ecología se relaciona con altitudes entre 0 a 2760 msnm (Vega, 2001).

2.4.4. Usos

Según los aportes de De la Torre y Navarrete (2008), se menciona que el fruto es comestible ya que tiene un alto contenido vitamínico y se usa para preparar bebidas refrescantes (Kichwa de la Sierra – Loja; Secoya – Sucumbíos). Se usa como estimulante (etnia no especificada – Imbabura). El aceite esencial extraído de los frutos es vermífugo (etnia no especificada – otros (Región Costa)).

La planta se usa en las casas como repelente de insectos (etnia no especificada – Imbabura), también se coloca en el brazo como perfume (Cofán – Sucumbíos). Sirve

como escoba (etnia no especificada – Pichincha) y se la usa para frotaciones y como lavativa (etnia no especificada – Loja).

El zumo de las hojas se usa para fortalecer el cerebro y reactivar la inteligencia (etnia no especificada – Cotopaxi, Chimborazo). El zumo se bebe junto con leche (Kichwa de la Sierra – Cotopaxi, Chimborazo; mestiza – Pichincha; etnia no especificada – Imbabura, Pichincha, Chimborazo, Cañar, Loja). En la alimentación de los niños ayuda al desarrollo del cerebro (etnia no especificada – Loja). El zumo de la planta machacada se bebe para tratar afecciones de la bilis (etnia no especificada – Cañar) al igual que se usa como laxante (mestiza – Guayas). El jugo se usa como antiespasmódico, estimulante cardíaco y para estimular las secreciones de la piel y de los riñones.

La cocción de la planta se usa como medicina para tratar la influenza (Kichwa de la Sierra – Loja). La decocción de la planta calma el dolor de cabeza y de estómago. (Chachi – Esmeraldas). La infusión de la raíz, tallo y hojas se usa como tónico cerebral para mejorar la memoria (Kichwa de la Sierra – Cotopaxi, Chimborazo; mestiza – Pichincha; etnia no especificada – Imbabura, Pichincha, Chimborazo; Bolívar, Cañar, Azuay, Loja). La infusión se usa como cicatrizante, para tratar las verrugas y los dolores estomacales (etnia no especificada – Chimborazo). La planta en infusión es usada para mejorar la memoria y para combatir la anemia, resfríos y la tos (Kichwa de la Sierra – Imbabura).

La raíz se usa como purgante (Kichwa de la Sierra – Imbabura). Las ramas son utilizadas para aliviar el dolor de cabeza (mestiza – Pichincha; etnia no especificada – Pichincha). El zumo de la raíz, con miel de abeja es eficaz para tratar granos de la piel. Las hojas maceradas son utilizadas para tratar la sarna; en infusión se usan para lavados de estómago, para tratar cólicos y almorranas (etnia no especificada – otros (Región Costa), se usa también como antiséptico y para acelerar la curación de pústulas (etnia no especificada – Azuay, Cañar). Las hojas tratan afecciones indeterminadas; se utilizan como purgante (Secoya – Sucumbíos) y calman el dolor de cabeza (Kichwa de la Sierra – Cotopaxi). Las hojas y el tallo en infusión alivian el dolor de riñones; molidos y tostados curan heridas (etnia no especificada – Imbabura). Las hojas y tallos molidos se utilizan para tratar el histerismo, el catarro

del estómago y cólicos intestinales (etnia no especificada – Carchi). Las hojas en emplastos sirven para tratar el colerín y mezcladas con las del marco se usan para tratar las caries (Kichwa de la Sierra – Chimborazo). Las hojas, tallos y raíces se utilizan para eliminar amebas, áscaris, lombrices y otros parásitos intestinales (Kichwa de la Sierra – Tungurahua, Chimborazo, Loja; Cofán, Secoya – Sucumbíos; Kichwa del Oriente – Orellana; mestiza – Pichincha; etnia no especificada – Manabí, Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Chimborazo, Bolívar, Cañar, Azuay, Loja, Napo).

2.4.5. Composición química

La planta entera es rica en aceite esencial (De la Torre y Navarrete, 2008). El mayor contenido de este aceite se encuentra en las semillas, se ha determinado la presencia de: ascaridol (componente principal) (León, 2009) que es el causante del efecto antiparasitario de esta planta, p-cimeno, (-)-limoneno, (+)-alcanfor, isoascaridol, aritasona, safrole, N-docosano, N-hentriacontano, N-heptacosano, N-octacosano, β -pineno, methadieno, metilsalicilato, dimetilsulfóxido, mirceno, geraniol, δ -terpineol, l-pinocarvona, ácidos butírico, tartárico, ferúlico, vainílico, salicilato de metilo y de terpinilo, aritasona. Además se reportan en diferentes partes los siguientes compuestos: ambrósido, betaína, chenopodiósidos A y B, chenopodium saponina A, kaempferolrhamnósido, santonina, saponinas

2.4.6. Farmacología y actividad biológica

El efecto antiparasitario del ascaridol ha sido ampliamente demostrado. Este principio activo es muy tóxico para los áscaris y ancylostomas (Gupta, 1995).

En estudios realizados por (Jaramillo, Duarte, y Delgado, 2012), se describe que la infusión de hojas y flores es utilizada como estomacal, carminativa, antihelmíntica y digestiva debido a su acción paralizante y narcótica sobre ascárides, oxiuros y anquilostomas. En estos estudios también se menciona que está comprobado que el extracto acuoso inhibe el crecimiento de *Staphylococcus aureus*; las hojas tienen actividad antiamebiana, antifúngica, antimalárica (*Plasmodium falciparum*, *P. vivax in vitro* y *P. berghei*, en ratones); y, el aceite posee actividad antibacteriana,

antihelmíntica (particularmente contra *Ascaris lumbricoides*), antifúngica, antileishmania, acaricida, entre otras.

2.4.7. Toxicidad

De acuerdo a los estudios de Vega (2001), el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) puede presentar efectos tóxicos como náuseas, vómitos, depresión del sistema nervioso, lesiones hepáticas y renales, sordera, trastornos visuales, problemas cardíacos y respiratorios y en altas dosis es abortivo y puede provocar la muerte.

2.5. Valoración de las drogas

Valorar las drogas vegetales significa identificarlas y determinar su calidad o pureza. La calidad de una droga se traduce en su valor intrínseco o lo que es lo mismo la cantidad de principios activos presentes en ella (Miranda, 2002).

Existen varios métodos por los cuales se evalúan las drogas: percepción, microscopía, físico - químicos y biológicos.

2.5.1. Métodos de percepción

A través de este método se evalúa morfología, tamaño, olor, color externo e interno y fractura de la droga.

También se evalúan las alteraciones que sufren las drogas debido a las condiciones inadecuadas de recolección y almacenamiento; así como, la evidencia de ataque por roedores (pelos, heces y orina) y la presencia de materias extrañas.

2.5.2. Métodos físico – químicos

Mediante el empleo de los métodos físico – químicos puede determinarse y establecerse la calidad de una droga, así como, completar su identificación (Miranda, 2002).

Estos son ensayos que se realizan sobre la droga entera, pulverizada o extractos de la planta, pueden ser cualitativos o cuantitativos que permiten conocer la composición de la droga o planta, caracterizar sus principios activos y reconocer falsificaciones.

2.5.2.1. Métodos físico - químicos cuantitativos

Estos métodos permiten valorar la calidad y pureza de las drogas. Se clasifican en generales y específicos.

Los métodos físico-químicos cuantitativos generales según la Universidad Politécnica de Madrid (2012) son: cenizas, residuo seco, materia extraíble, parámetros físicos (densidad, poder rotatorio, índice de refracción), índices químicos (acidez, saponificación, sobre todo para aceites esenciales), índices de hinchamiento (para mucílagos), índices de espuma (para saponinas) y contaminantes (metales pesados, plaguicidas, aflatoxinas).

Mientras que los cuantitativos específicos son: métodos volumétricos, métodos espectrofotométricos, fluorimetría, espectroscopía y radioinmunoanálisis.

Determinación de cenizas

Las cenizas representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga.

Su determinación es importante porque la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica. También si su contenido es elevado, puede ser indicador de contaminación por adición de materia mineral o tierra, especialmente en raíces (Universidad Politécnica de Madrid, 2012).

Hay 3 tipos de cenizas que podemos encontrar en la materia vegetal:

- Cenizas totales: es el residuo inorgánico que se obtiene al incinerar una droga, este residuo corresponde a las cenizas derivadas del tejido vegetal (cenizas fisiológicas) y a las de la materia extraña (cenizas no fisiológicas).
- Cenizas solubles en agua: es aquella parte de las cenizas totales que se disuelven en agua.
- Cenizas insolubles en ácido clorhídrico: son los residuos después de la ebullición de las cenizas totales con HCl al 10 %. Esta determinación mide la presencia de sílice, especialmente de arena y tierra silícea.

Determinación de humedad

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el material vegetal. Para una buena conservación ha de ser inferior al 10 %, para evitar los procesos enzimáticos y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca (Universidad Politécnica de Madrid, 2012).

Determinación de sustancias solubles

Se basa en la extracción de las sustancias solubles en agua, alcohol o mezclas hidroalcohólicas, mediante maceración y evaporación hasta sequedad de una alícuota del extracto (Miranda, 2002).

Determinación de sólidos totales

La determinación de la variación de la masa, debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo y secado del residuo en estufa, hasta masa constante, se le asigna como sólidos totales (Miranda, 2002).

Determinación de la densidad relativa

Se entiende por densidad relativa a la relación entre la masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25 °C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico (Miranda, 2002).

Determinación del índice de refracción

Viene dado por la relación entre la velocidad de la luz en el aire y la velocidad en la sustancia de ensayo. Para su determinación se emplea el refractómetro de Abbé. Es un valor útil para establecer la pureza de los aceites esenciales, cuyos valores figuran en muchas de las farmacopeas (Universidad Politécnica de Madrid, 2012).

Determinación del pH

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice

numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógeno (Miranda, 2002).

2.5.2.2. Métodos físico - químicos cualitativos

Estos métodos determinan en qué proporción se encuentran los principios activos en una droga.

Los métodos físico - químicos cualitativos según la Universidad Politécnica de Madrid (2012) son: reacciones de identificación (coloreadas, de precipitación, fluorescencia, microsublimación, etc.), métodos cromatográficos y métodos espectroscópicos.

2.6. Métodos de extracción de principios activos

Los principios activos contenidos en las plantas pueden ser extraídos mediante diversas técnicas. El método de extracción utilizado depende del tipo de planta a emplear (caracteres organolépticos), de la concentración y característica química en las diferentes partes de la planta.

El método de extracción por destilación con arrastre de vapor es el más utilizado para la extracción de aceites esenciales. El principio básico de la destilación de dos líquidos heterogéneos como el agua y un aceite esencial, es que cada uno ejerce su propia presión de vapor, como si el otro componente estuviera ausente. Cuando las presiones de vapor combinadas alcanzan la presión del recinto, la mezcla hierve. Aceites esenciales con puntos de ebullición de hasta 300 °C evaporan a temperaturas cercanas al punto de ebullición del agua (Cerutti y Neumayer, 2004).

En cambio, según Miranda (2002), la percolación se utiliza para la preparación de extractos: extracto fluido (preparación líquida tal que una parte por masa o volumen es equivalente a una parte por masa o droga vegetal), extracto blando (preparación semi sólida obtenida por evaporación total o parcial de los solventes usados para la extracción) y extracto seco (preparación sólida obtenida por evaporación del solvente usado en su producción).

La percolación consiste en hacer pasar el disolvente a través de la droga, hasta su extracción exhaustiva completa. En pequeña escala la percolación se realiza en

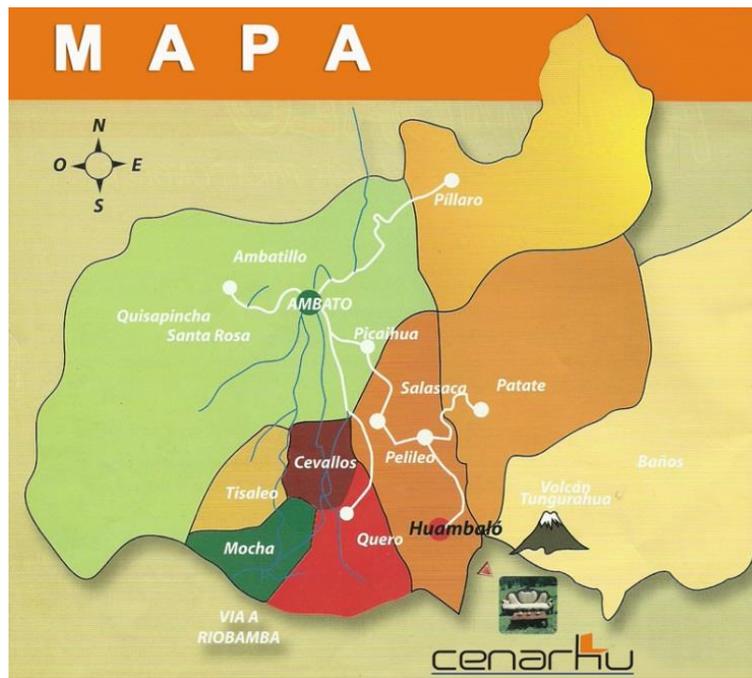
aparatos denominados percoladores, de cuerpo cilíndrico o cónico, provisto de un grifo en la parte inferior para regular el flujo del disolvente (Sharapin, 2000).

La percolación comprende una etapa preliminar de humedecimiento de la droga fuera del cuerpo del percolador. Este procedimiento tiene como objetivo aumentar el contacto, facilitando el paso del disolvente y no permitiendo la formación de falsas vías, que perjudican la eficiencia del proceso. El humedecimiento de la droga aumenta la porosidad de la pared celular y facilita la difusión de las sustancias extraíbles hacia el exterior de las células, debe ser realizado fuera del percolador ya que puede hincharse excesivamente, en especial cuando el disolvente es acuoso y comprimirse contra las paredes no permitiendo el paso del disolvente (Sharapin, 2000).

2.7. Área de desarrollo de las plantas de interés

Ubicación: Huambaló está situado en la provincia de Tungurahua, a 9 km de la ciudad de Pelileo, como se muestra en la figura 3, al pie de las colinas de Mulmul, Quitasol, Tablón, Pusmasa y la Cruz considerados ramales del Nudo del Igualata.

Figura 3 Mapa político de la provincia de Tungurahua



Fuente: Cenarhu, 2012.

Límites:

Al norte: Parroquia La Matriz

Al sur: Parroquia Cotaló y Cantón Quero

Al este: Parroquia La Matriz

Al oeste: Parroquia Bolívar

Superficie: tiene una superficie total de 27,4 km² (TV, 2011).

Clima: predomina un clima templado en la parte baja y frío en la parte alta.

Altura: su altura promedio es 2720 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.).

Población: su población total es de 6994 habitantes (TV, 2011).

2.8. La piel humana

La piel es un órgano de vital importancia, estructura compleja y múltiples funciones. Es una envoltura con propiedades únicas: compacta, resistente, pero a la vez elástica, sensible y en continuo recambio (Universidad Nacional del Nordeste, 2013).

La piel es un órgano de protección que recubre toda la superficie exterior del cuerpo humano. Su grosor es muy variable, entre los 0,5 y los 4 milímetros en la mayor parte del cuerpo (Martínez, 2011).

2.8.1. Microbiología de la piel humana

Un cuerpo humano está formado por alrededor de 10¹⁴ células, de las que sólo aproximadamente el 10 % son humanas, el resto son microorganismos asociados. En su gran mayoría estos microorganismos no son patógenos. La flora normal puede llegar a ser localmente muy abundante como en el intestino grueso donde se alcanzan niveles de 10¹¹ microorganismos por gramo (Universidad de Navarra, 2005).

La flora microbiana normal, también denominada microflora o microbiota, se refiere a los diferentes microorganismos que habitan en las superficies internas y externas de los seres humanos convencionalmente sanos (Gamiño, Barrios, Cadena, Anaya y Padilla, 2005). En la mayoría de los casos, la interacción entre la flora normal y el ser humano es beneficiosa; pero pueden producirse circunstancias en que esto cambie y la flora normal se torne patógena oportunista.

Específicamente, en las manos; la distribución de la flora microbiana no es homogénea, ya que el área bajo las uñas alberga mayor cantidad de microorganismos que otras zonas, y además es más difícil de eliminar con el lavado de manos. La pintura de uñas y las uñas artificiales incrementan más la contaminación de esa zona.

2.8.2. Bacterias colonizadoras de la piel

Los microorganismos de la piel son generalmente grampositivos (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus*) que son más resistentes a agentes antisépticos. Se encuentran en menor proporción gramnegativos (*Pseudomonas*) y bacterias entéricas. También pueden encontrarse algunas levaduras y hongos productores de tiña (Universidad de Navarra, 2005).

Las bacterias colonizadoras de la piel se dividen en dos grupos: flora transitoria y flora residente.

La flora transitoria representa aquellos microorganismos que colonizan las capas más superficiales de la piel y son más fáciles de eliminar con un correcto lavado de la misma (Gamiño, Barrios, Cadena, Anaya y Padilla, 2005). Estos microorganismos son los más frecuentemente implicados en la transmisión de infecciones nosocomiales (Universidad de Navarra, 2005).

La flora transitoria más común la componen *Staphylococcus aureus* y las bacterias gramnegativas coliformes.

La flora residente se encuentra en los estratos más profundos de la epidermis y es más difícil de eliminar mediante el lavado (Gamiño, Barrios, Cadena, Anaya y Padilla, 2005). La componen microorganismos que sobreviven y se multiplican en la piel. Este tipo de flora, por lo general no está implicada en las infecciones nosocomiales. Componen esta flora los estafilococos plasmocoagulasa negativos, especies del género *Corynebacterium*, especies de *Acinetobacter* y en ocasiones alguna enterobacteria.

2.9. Bacterias grampositivas

Las siguientes cepas mencionadas a continuación son las que se utilizarán para evaluar la actividad antibacteriana del jabón líquido a realizarse.

2.9.1. *Staphylococcus aureus*

Tabla 3 Clasificación taxonómica de *Staphylococcus aureus*

Reino	Bacteria
Filo	Firmicutes
Clase	Bacilli
Orden	Bacillales
Familia	Staphylococcaceae
Género	<i>Staphylococcus</i>
Especie	<i>aureus</i>

Fuente: Boderó, 2010.

Staphylococcus aureus es una bacteria grampositiva esférica (cocos) con un diámetro de 1 a 1,3 micras. Cuando se ve al microscopio aparece en racimos aunque también se evidencia en cadenas cortas. Es inmóvil y no forma esporas. El microorganismo puede crecer tanto con y sin oxígeno (anaerobios facultativos). Sus principales reservorios se encuentran en los seres humanos y los animales (Doctors, 2008).

La acción patógena deriva de su propia característica estructural (cápsula o capa mucosa, proteína A) que le permite la producción de una isoenzima y toxina específica (catalasa, emolisina, coagulasa, estafilocinasa, ialuronidasa, lipasa, etc.) y le da la capacidad de multiplicarse en todos los sitios del cuerpo causando daño celular localizado en el sitio de la infección (Carlone y Pompei, 2013).

La adquisición puede ser exógena o endógena. La transmisión exógena puede llevarse a cabo a través de la contaminación de tejido traumatizado (heridas o quemaduras); a través de la introducción al tejido de material médico contaminado y la ingestión de alimentos o leche contaminados.

La infección endógena se trata de la entrada de microorganismos desde la piel, a través de fracturas, heridas o cuerpos extraños desde un lugar en donde el microorganismo es comensal.

2.9.1.1. *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Aislamiento: líquido pleural (Collection, 2012).

Condiciones de crecimiento: Tryptic Soy Agar, Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar o Nutrient Agar – 37 °C en una atmósfera aeróbica (Microbiologics, 2011).

Aplicaciones: pruebas de medios y control de calidad para las cepas (Collection, 2012).

Características fenotípicas: según el ANEXO 1, da positivo a las pruebas de arginina dihidrolasa 1, fosfatasa, polimixina b resistencia, d-galactosa, l-lactato alcalinización, d-maltosa, resistencia bacitracina, crecimiento en 6,5 % NaCl, d-manitol, d-manosa, metil-b-d-glucopyronosido, O/129 resistencia, sacarosa/sucrosa, d-trehalosa, optoquina resistencia y a otras pruebas:

Catalasa (3 % de peróxido de hidrógeno): positivo

Coagulasa (sonda-plasma de conejo): positivo

Figura 4 *Staphylococcus aureus* ATCC 12600



Fuente: Maro Ibarra y Erika Paredes.

2.9.2. *Staphylococcus epidermidis*

Tabla 4 Clasificación taxonómica de *Staphylococcus epidermidis*

Reino	Bacteria
Filo	Firmicutes
Clase	Cocci
Orden	Bacillales
Familia	Staphylococcaceae
Género	<i>Staphylococcus</i>
Especie	<i>epidermidis</i>

Fuente: Rojas, 2009.

Staphylococcus epidermidis pertenece a los estafilococos coagulasa negativos (CNS), que se distingue de los estafilococos coagulasa positivos, tales como *Staphylococcus aureus*, por su falta de la enzima coagulasa (Otto, 2009).

Como citan Madigan, Martinko y Parker (1999), es un microorganismo resistente a un potencial de agua reducido que tolera bien la sequía y la salinidad; es un estafilococo gram positivo parásito habitual de los humanos y otros animales que puede causar infecciones graves, que vive en la piel y membranas mucosas.

Según González (2011), *Staphylococcus epidermidis* posee la capacidad de adherirse a polímeros y de generar biopelículas que surgen de la multiplicación y formación de una capa mucosa del patógeno. Este proceso se ve reforzado en presencia de proteínas que cubren los cuerpos extraños en el organismo. Las biopelículas son focos infecciosos a partir de los cuales las bacterias entran en el torrente circulatorio y pueden causar una sepsis.

2.9.2.1. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Aislamiento: nariz (Collection, 2012).

Condiciones de crecimiento: Tryptic Soy Agar, Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar o Nutrient Agar – 35 °C en una atmósfera aeróbica (Microbiologics, 2011).

Aplicaciones: pruebas de eficacia, pruebas de inhibición, pruebas de medios, control de calidad para las cepas, ensayos de esterilidad, pruebas de formulaciones antimicrobianas para el lavado de manos y control de calidad para las cepas de productos API (Collection, 2012).

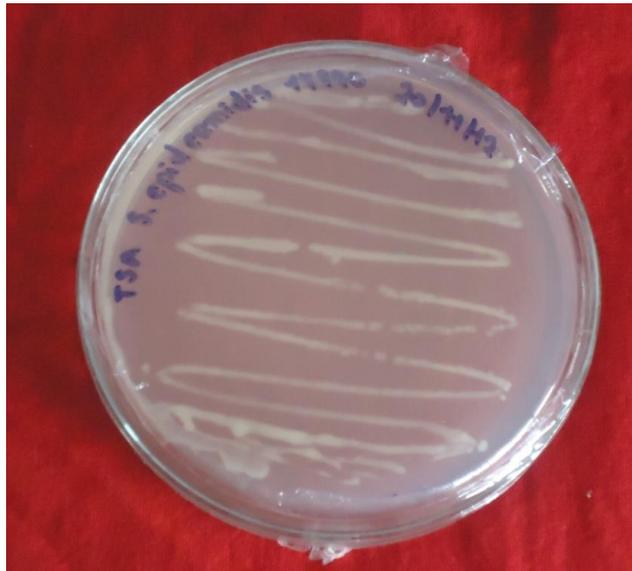
Características fenotípicas: Según el ANEXO 2 da positivo a las pruebas de arginina dihidrolasa 1, fosfatasa, ureasa, resistencia polimixina b, alcalinización l-lactato, lactosa, d-maltosa, bacitracina resistencia, crecimiento en 6,5 % NaCl, O/129 resistencia (comp.vibrio.), sacarosa/sucrosa, arginina dihidrolasa 2, optoquina resistencia y a otras pruebas:

Catalasa (3 % de peróxido de hidrógeno): positivo

Coagulasa (sonda-plasma de conejo): negativo

Características fenotípicas

Figura 5 *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

2.10. Bacterias gramnegativas

Las siguientes cepas mencionadas a continuación son las que se utilizarán para evaluar la actividad antibacteriana del jabón líquido a realizarse.

2.10.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Tabla 5 Clasificación taxonómica de *Pseudomonas aeruginosa*

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gamma Proteobacteria
Orden	Pseudomonadales
Familia	Pseudomonadaceae
Género	<i>Pseudomonas</i>
Especie	<i>aeruginosa</i>

Fuente: Brea, Alcántara, Acosta y Padrón, 2012.

Según Madigan, Martinko y Parker (1999) *Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo muy homogéneo con un único flagelo polar gram negativo quimioorganotrófico aeróbico que no muestra nunca un metabolismo fermentativo.

Produce piocianina y su crecimiento es a temperaturas superiores a 43 °C y es capaz de desnitrificación (Madigan, Martinko y Parker, 1999).

Pseudomonas aeruginosa se asocia frecuentemente a infecciones de los tractos urinario y respiratorio en la especie humana. Los factores que contribuyen a la patogénesis y virulencia incluyen la capacidad de adherencia, producción de toxinas y producción de glycocalix (Maimome, 2004).

2.10.1.1. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Aislamiento: orina (Collection, 2012).

Condiciones de crecimiento: Tryptic Soy Agar, Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar o Nutrient Agar – 35 °C en una atmósfera aeróbica (Microbiologics, 2011).

Aplicaciones: producción de piocianina, producción de pyorubin, producción de pyoverdine y pruebas de conservantes antimicrobianos (Collection, 2012).

Características fenotípicas: Según el ANEXO 3 da positivo a las pruebas de D-glucosa, gamma-glutamyl-transferasa, d-manosa beta-alanina arilamidasa

pna, l-prolina arilamidasa, lipasa, citrato (sodio), malonato, alcalinización de l-lactato, alcalinización de succinato y a otras pruebas:

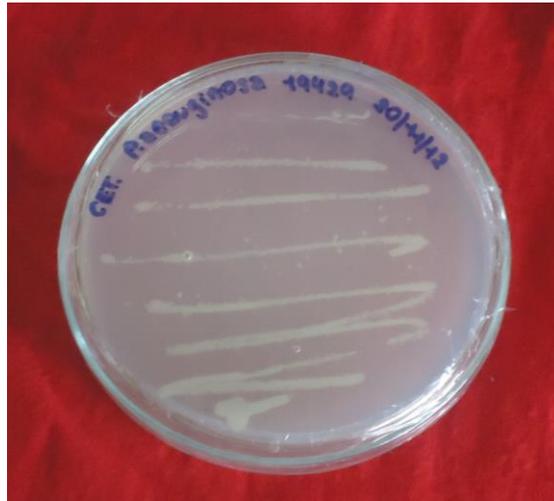
Oxidasa (Kovacs): positivo

Movilidad Medio B: negativo

Pseudomonas Agar P: positivo (color azul-verde se difunde en el agar)

Crecimiento a 42 ° C: positivo

Figura 6 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

2.10.2. *Escherichia coli*

Tabla 6 Clasificación taxonómica de *Escherichia coli*

Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>coli</i>

Fuente: Bodero, 2010.

Escherichia coli es un bacilo entérico gram negativo no esporulado móvil por flagelación peritrica, aerobio facultativo, oxidasa negativo, con requerimientos nutritivos muy sencillos, fermentadores de azúcares que puede crecer a partir de una gran variedad de fuentes de carbono y de energía como azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, etc. (Madigan, Martinko y Parker, 1999).

Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se lo considera un germen indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos, junto con otros similares agrupados bajo la denominación de "bacterias coliformes" (Custodio, 2009).

2.10.2.1 *Escherichia coli* ATCC 11229

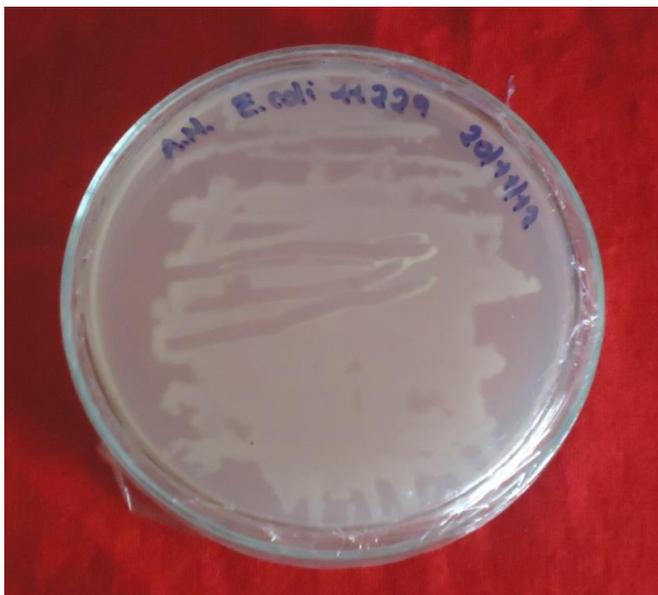
Condiciones de crecimiento: Tryptic Soy Agar, Sheep Blood Agar, Standard Methods Agar o Nutrient Agar – 37 °C en una atmósfera aeróbica (Microbiologics, 2011).

Aplicaciones: pruebas de resistencia bacteriana, pruebas de inhibición, pruebas de filtro de membrana, pruebas de almohadillas absorbentes, pruebas de formulaciones antimicrobianas para el lavado de manos, pruebas de desinfección y pruebas de sanitización (Collection, 2012).

Características fenotípicas: Según el ANEXO 4 da positivo a las pruebas de beta-galactosidasa, d-glucosa, fermentación/glucosa, d-maltosa, d-manitol, d-manosa, arilamidasa tirosina, d-sorbitol, d-trehalosa, alcalinización de succinato, alfa-galactosidasa, ornitina descarboxilasa, courmarato, beta-glucoronidasa, O/129 resistencia (comp. vibrio.), Ellman y a otras pruebas:

Oxidasa (Kovacs): negativo

Figura 7 *Escherichia coli* ATCC 11229



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

2.11. Pruebas de sensibilidad antimicrobianas

Los microorganismos en general pueden ser probados en su respuesta a los antimicrobianos y particularmente las bacterias pueden ser estudiadas en todos aquellos detalles que definen su comportamiento frente a los antimicrobianos. La respuesta que exhiban las bacterias frente a los antimicrobianos, nunca será similar a lo que ocurre en el organismo humano. Sin embargo, como fruto del análisis estadístico de la información derivada de muchos estudios y a partir de la normalización de los procedimientos de laboratorio, es que los resultados obtenidos *in vitro* alcanzan un valor estupendo de orientación para el médico tratante (Trigoso, Torrico y Riera, 2003).

Frecuentemente están indicadas en caso que la especie en estudio sea capaz de mostrar resistencia a los antibióticos usados comúnmente.

2.11.1. Categorías interpretativas de las bacterias

Según Granados y Villaverde (2002), las categorías interpretativas de las bacterias son:

- a) Sensible: un microorganismo es sensible a un determinado antimicrobiano cuando el agente antimicrobiano puede alcanzar niveles plasmáticos iguales,

por lo menos a la concentración mínima inhibitoria (C.M.I.), en el lugar de la infección.

C.M.I. representa la mínima cantidad de antimicrobiano capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo.

- b) Resistente: un microorganismo es resistente a un agente antimicrobiano cuando la concentración máxima de antimicrobiano que se puede localizar en el lugar de la infección no es suficiente para eliminar el microorganismo, es decir, la concentración de agente antimicrobiano necesario para destruir el microorganismo no se puede elevar más por efectos tóxicos secundarios. La concentración de antimicrobiano es menor a la C.M.I. necesaria para destruir el microorganismo.
- c) Sensibilidad intermedia: es cuando el microorganismo no es afectado por dosis normales de agente antimicrobiano dadas a intervalos normales, pero si se produce una acumulación en el lugar de la infección sin llegar a dosis que produzcan efectos tóxicos, se puede eliminar el microorganismo.

2.11.2. Antibiograma

Un antibiograma es un estudio de la sensibilidad del microorganismo, productor de una enfermedad, a los antimicrobianos (Granados y Villaverde, 2002).

Este método fue estandarizado por Bauer en 1966. Varios factores afectan el tamaño del halo de inhibición: la carga de antibiótico en los discos, la difusión del antibiótico en el medio de cultivo, el tamaño del inóculo bacteriano, la composición y el grosor del medio de cultivo, la velocidad del crecimiento bacteriano y el tiempo de incubación (Gamazo, López-Goñi y Díaz, 2005).

El principio del método involucra la aplicación de una cantidad determinada de antimicrobiano en un reservorio (disco de papel, pastillas con drogas en estado cristalino, etc.) en la superficie del agar sobre la cual se ha distribuido un inóculo del microorganismo en cuestión; se formará así, por difusión, un gradiente de concentración de antimicrobiano alrededor del reservorio y la sensibilidad del microorganismo estará indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. El diámetro obtenido dependerá no sólo de la sensibilidad

del microorganismo y la carga del disco, sino también del espesor de la capa de agar, pH y composición del medio de cultivo, de la capacidad de difusión de la droga en ese medio, de la temperatura y atmósfera de incubación, de la velocidad de duplicación bacteriana, y del tamaño del inóculo y fase de crecimiento de la bacteria (Malbrán, 2001).

2.12. Jabones

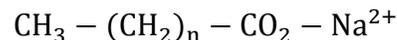
El nacimiento del jabón como artículo de limpieza tuvo lugar hace varios milenios. Los sumerios, 3000 años antes de Cristo (a.C.) ya fabricaban el jabón; hervían diversos álcalis juntos y utilizaban su residuo para lavarse. Los antiguos egipcios ya utilizaban un producto jabonoso que consistía en una mezcla de agua, aceite y ceras vegetales o animales (Ayala, Osorio y Santos, 2009).

Parece que al inicio el propósito del jabón era estrictamente medicinal, para distintos tratamientos en la piel, fue a partir del 200 después de Cristo (d.C.) que se utilizó para la higiene (Galema, Oblitas y Castellví, 2009).

Hoy en día el jabón es un implemento de uso diario en toda la población mundial, su consumo fue creciendo tanto que llegó a cubrir todas las regiones del mundo generalizando su uso entre las personas. Con el paso de los años, el uso del jabón se hizo indispensable en la vida de las personas, pasando de ser un lujo a una necesidad.

2.12.1. Química del jabón

Los jabones son sustancias que ayudan a limpiar el aceite y la suciedad grasienta de superficies, metales, la piel, etc. Restringimos el término jabón frente al término detergente, a las sales sódicas o potásicas de ácidos carboxílicos de cadena larga. Un ácido carboxílico se define por la presencia de un grupo carboxílico, $-CO_2H$. Si el anión del grupo carboxílico es equilibrado con un catión sodio o potasio y por otro lado se une mediante enlaces covalentes a una cadena larga de grupos $-CH_2-$ y termina en el grupo CH_3- , entonces tenemos una molécula de jabón. Se puede generalizar la estructura molecular del jabón de esta manera:



$CH_3 - (CH_2)_n$ se parece mucho a las cadenas largas de las moléculas de los hidrocarburos como la gasolina o el aceite mineral provenientes del petróleo. Esta parte de las moléculas del jabón tienden a disolverse fácilmente en hidrocarburos o materiales pesados, pero no en agua.

Sin embargo el otro lado de la molécula de jabón es iónico. Como el cloruro de sodio y otras sustancias iónicas, este extremo iónico tiende a disolverse en agua y no en hidrocarburos (Galema, Oblitas y Castellví, 2009).

Como resultado hay una molécula con dos tendencias contradictorias en cada extremo. Una molécula hidrofílica que es atraída por el agua y rehúye los hidrocarburos y las sustancias aceitosas o grasientas; y una estructura hidrofóbica que rehúye el agua pero se mezcla fácilmente con las sustancias aceitosas o grasientas.

2.12.2. Jabón líquido

Hace algún tiempo los detergentes no jabonosos, y los jabones líquidos y blandos, fueron la base habitual de los champúes capilares. Recientemente, estos productos se han vuelto a utilizar como limpiadores de manos y cara, bajo la presentación más cómoda de dosificadores de válvula (Simmons, 2000).

Como cita Martini (2005), al jabón líquido se lo define como un jabón de amplio espectro microbiano, de rápida acción y que no es irritante; a la acción tensioactiva de un champú suave se añade un efecto antibacteriano por adición de un antiséptico. No son medicamentos, están clasificados como productos cosméticos, a pesar de su denominación de <dermatológico>.

Las ventajas que presenta es que es más higiénico, debido a que el usuario tiene contacto solo con la dosis que ocupa y las siguientes siempre serán nuevas; en contraste con los de barra, donde varios usuarios tienen contacto con ella y esto puede provocar una cadena de transmisión de bacterias.

Los ingredientes del jabón líquido tienden a ser más suaves para la piel (si bien igual de efectivos limpiando) y con una espuma más ligera, lo cual hace que el enjuague sea mejor y que no se queden residuos en la piel, a diferencia de los de barra, donde

la espuma llega a ser un poco más densa. Generalmente los jabones en barra requieren en su fórmula un porcentaje mínimo de sosa cáustica, para conseguir su consistencia de pasta y evitar que se arrancie el sebo con el que se fabrica, lo cual causa un desgaste de la grasa natural de la piel, provocando la resequedad.

Otra factor es que la piel se debe mantener con un pH balanceado, aproximadamente 5.7, los jabones líquidos ayudan a conservar su equilibrio ya que regularmente su fórmula tiende más hacia la acidez, en cambio los de barra tienden más hacia la alcalinidad (Simmons, 2000).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Control de calidad de la droga

El control de calidad de la droga es muy importante ya que comprende la identificación de la especie y la determinación de su calidad y pureza.

Dentro del control de calidad de la droga, los ensayos que realizamos fueron elaborados con material fresco, previamente seleccionado y desinfectado. Los resultados del control de calidad permiten calificar a las muestras en calidad óptima. Estos ensayos implicaron la determinación de materias extrañas y los análisis físico – químicos, descritos a continuación.

3.1.1. Determinación de materias extrañas

Materiales: cajas petri.

Equipos: balanza técnica BOECO modelo BLC – 500.

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se pesó 100 g de la droga y se hizo una separación manual de las materias extrañas de la muestra.
- Se volvió a pesar cada una de las partes por separado.
- El proceso se lo realizó por triplicado.

Cálculo:

Ecuación 1 Porcentaje de materias extrañas según su clasificación

$$P = \frac{X}{M} * 100$$

Donde:

P= Porcentaje de materia extraña según su clasificación (%).

X= Peso de la materia extraña.

M= Peso inicial de la droga.

3.1.2. Métodos físico – químicos para el análisis de la droga cruda

3.1.2.1. Determinación de cenizas totales

Materiales: cápsulas de porcelana previamente taradas, pinza, desecador, malla de asbesto, trípode.

Equipos: balanza analítica METTLER TOLEDO modelo ML204/01, mechero Bunsen, horno mufla THERMOLYNE modelo F48010.

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se pesó 2 g de la droga fresca cortada finamente en una cápsula de porcelana previamente tarada.
- Se calentó suavemente cada cápsula con la muestra hasta carbonizar.
- Posteriormente se incineró en un horno mufla a una temperatura de 700 °C durante 2 horas.
- Se enfriaron las cápsulas en un desecador durante 30 minutos y se pesaron.
- Se volvieron a poner las cápsulas en el horno mufla a una temperatura de 700 °C durante 15 minutos; se dejaron enfriar en el desecador durante 15 minutos y se pesaron.
- Este proceso se realizó por triplicado para cada planta.

Cálculo:

Ecuación 2 Porcentaje de cenizas totales

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

C= Porcentaje de cenizas totales (%).

M= Masa de la cápsula vacía (g).

M₁= Masa de la cápsula con la porción de ensayo (g).

M₂= Masa de la cápsula con la ceniza (g).

100= Factor matemático para los cálculos.

El resultado se aproxima hasta las décimas.

3.1.2.2. Determinación de cenizas solubles en agua

Materiales: cápsulas de porcelana previamente taradas, desecador, malla de asbesto, trípode, vidrios de reloj, papel filtro libre de cenizas, embudo de vidrio, probeta de 25 mL.

Equipos: balanza analítica METTLER TOLEDO modelo ML204/01, horno mufla THERMOLYNE modelo F48010.

Reactivos: agua destilada.

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- A las cenizas totales obtenidas se añadió 15 mL de agua destilada.
- Se taparon las cápsulas con el vidrio de reloj y se hirvieron suavemente a la llama del mechero Bunsen durante 5 minutos. Este proceso se realizó individualmente.
- La solución se filtró a través del papel filtro libre de cenizas, luego el papel filtro con el residuo se transfirió a la cápsula inicial para carbonizar.
- Posteriormente se incineró en un horno mufla a una temperatura de 700 °C durante 2 horas. Se enfriaron las cápsulas en un desecador durante 30 minutos y se pesaron.
- Se volvieron a colocar las cápsulas en el horno mufla a una temperatura de 700 °C durante 15 minutos; se dejaron enfriar en el desecador durante 15 minutos y se pesaron. Este procedimiento se realizó por triplicado, para obtener la masa constante.

Cálculo:

Ecuación 3 Porcentaje de cenizas solubles en agua

$$Ca = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

Ca= Porcentaje de cenizas solubles en agua (%).

M= Masa de la cápsula vacía (g).

M₁= Masa de la cápsula con la porción de ensayo (g).

M₂= Masa de la cápsula con las cenizas totales (g).

M_a = Masa de la cápsula con las cenizas solubles en agua (g).

100 = Factor matemático para los cálculos.

El resultado se aproxima hasta las décimas.

3.1.2.3. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Materiales: cápsulas de porcelana previamente taradas, crisoles de porcelana previamente tarados, pinza, desecador, malla de asbesto, trípode, vidrios de reloj, papel filtro libre de cenizas, embudo de vidrio, vaso de precipitación de 500 mL, pipeta de 10 mL, pera de succión.

Equipos: balanza analítica METTLER TOLEDO modelo ML204/01, mechero Bunsen, horno mufla THERMOLYNE modelo F48010, baño de agua SHEL-LAB modelo W14M – 2.

Reactivos: agua destilada, ácido clorhídrico al 10 %.

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se volvió a realizar el mismo procedimiento para obtener las cenizas totales y a éstas se añadieron 3 mL de ácido clorhídrico al 10 %.
- Se taparon las cápsulas y los crisoles con el vidrio de reloj; se calentaron sobre el baño de agua durante 10 minutos.
- Se lavaron los vidrios de reloj con 5 mL de agua caliente sobre las cápsulas y los crisoles iniciales.
- La solución se filtró a través del papel filtro libre de cenizas, una vez filtrado el papel filtro con el residuo se transfirieron a la cápsula o crisol inicial para carbonizar.
- Posteriormente se incineró en un horno mufla a una temperatura de 700 °C durante 2 horas.
- Se enfriaron las cápsulas y los crisoles en un desecador durante 30 minutos y se pesaron.
- Se volvieron a poner las cápsulas y los crisoles en el horno mufla a una temperatura de 700 °C durante 15 minutos; se dejaron enfriar en el desecador

durante 15 minutos y se pesaron. Este procedimiento se realizó por triplicado hasta obtener la masa constante.

Cálculo:

Ecuación 4 Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

$$B = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

B= Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico (%).

M= Masa de la cápsula vacía (g).

M₁= Masa de la cápsula con la porción de ensayo (g).

M₂= Masa de la cápsula con las cenizas totales (g).

M_a= Masa de la cápsula con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (g).

100= Factor matemático para los cálculos.

El resultado se aproxima hasta las décimas.

3.1.2.4. Determinación del contenido de humedad

Materiales: cápsulas de porcelana previamente taradas, pinza, desecador.

Equipos: balanza analítica METTLER TOLEDO modelo ML204/01, estufa MEMMERT modelo SNB – 400.

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se pesó 2 g de la droga fresca en el caso del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y droga seca en el caso del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) previamente cortada finamente en una cápsula de porcelana previamente tarada. Este proceso se realizó por triplicado para cada planta.
- Se desecó en la estufa a una temperatura de 105 °C durante 3 horas; se enfriaron las cápsulas en una desecadora durante 15 minutos y se pesaron.
- Se volvieron a poner las cápsulas en la estufa a una temperatura de 105 °C durante 1 hora; se dejaron enfriar en la desecadora durante 15 minutos y se pesaron. El proceso se realizó por triplicado

Cálculo:

Ecuación 5 Porcentaje de pérdida en peso por desecación

$$Hg = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} * 100$$

Donde:

Hg= Porcentaje de pérdida en peso por desecación (%).

M= Masa de la cápsula vacía (g).

M₁= Masa de la cápsula con la porción de ensayo desecada (g).

M₂= Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g).

100= Factor matemático para los cálculos.

El resultado se aproxima hasta las décimas.

3.1.2.5. Determinación de sustancias solubles

Materiales: cápsulas de porcelana previamente taradas, pinza, desecador, matraz Erlenmeyer de 250 mL, embudos de plástico, papel filtro, pipeta de 10 mL, pera de succión, probeta de 25 mL, papel aluminio.

Equipos: balanza analítica METTLER TOLEDO modelo ML204/01, estufa MEMMERT modelo SNB – 400, agitador electrónico THERMOLYNE modelo M65825, baño de agua SHEL – LAB modelo W14M – 2.

Reactivos: alcohol de 96°.

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se pesó 5 g exactos de la droga fresca en el caso del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y droga seca en el caso del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) previamente cortada finamente y se transfirió a un matraz Erlenmeyer de 250mL.
- Se añadió 100 mL de mezcla hidroalcohólica (70 mL de alcohol de 70° y 30 mL de agua) a cada matraz Erlenmeyer; se tapó con papel aluminio; se agitó por 6 horas en el agitador electrónico aproximadamente a 300 rpm y se dejó en reposo hasta el día siguiente.
- Se agitó 30 minutos más y se dejó en reposo 30 minutos.

- Se filtró y se tomó una alícuota de 20 mL y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada.
- Se evaporó sobre baño de agua y se desecó en la estufa a una temperatura de 105 °C durante 3 horas, se enfriaron las cápsulas en una desecadora durante 15 minutos y se pesaron.
- Todo este proceso se realizó por triplicado para cada planta.

Cálculo:

Ecuación 6 Porcentaje de sustancias solubles

$$Ss = \frac{R * 500 * 100}{M(100 - H)}$$

Donde:

Ss= Porcentaje de sustancias solubles (%).

H= Humedad de la muestra (%).

R= Residuo de la muestra (g).

M= Masa de la muestra (g).

500 y 100= Factores matemáticos para los cálculos.

El resultado se aproxima hasta las décimas.

3.2. Obtención del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) por medio de la técnica de percolación

Materiales: percoladores de 1000 mL y 500 mL, soportes universales, pinzas, nueces, frascos ambar de 1 L, papel aluminio, papel filtro, matraz Erlenmeyer, embudos de plástico, vasos de precipitación.

Equipos: balanza técnica BOECO modelo BLC – 500, estufa MEMMERT modelo SNB – 400, molino de discos MONTERO modelo DM – WP150II, baño de agua SHEL – LAB modelo W14M – 2, refrigeradora no frozen INDURAMA.

Reactivos: alcohol de 96°, hipoclorito de sodio al 5 %, agua destilada.

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se pesó 1360 g de la droga fresca (hojas) libre de materias extrañas y se desinfectó con hipoclorito de sodio al 5 % diluido en agua durante 20 minutos.
- Se secó la droga desinfectada en la estufa a 41 °C durante 48 horas; se molió la droga seca y se pesó.
- Los 260 g de la droga molida se humedecieron en relación 1:4 con mezcla hidroalcohólica (70 % de alcohol de 96° y 30 % de agua) durante 2 horas.
- Pasado este tiempo, se transfirió la droga humedecida al percolador. Para garantizar que no queden burbujas de aire en la masa vegetal, se vertió la mezcla con el orificio de salida del percolador abierto y cuando este comenzó a salir se cerró. Se siguió vertiendo la mezcla hidroalcohólica hasta que esta sobrepasó la masa vegetal aproximadamente unos 2 cm. Se maceró durante 24 horas.
- Al siguiente día, se abrió el orificio de salida y se dejó salir el extracto líquido en un frasco ámbar. Se recogió todo el extracto líquido y se recirculó los 3/4 del mismo en el percolador y el 1/4 se guardó en el frasco ámbar en la refrigeradora a 9 °C. Se aumentó mezcla hidroalcohólica en el percolador equivalente al 1/4 guardado del extracto.
- Después de 48 horas, este proceso se repitió por segunda vez.
- Al siguiente día, se recolectó todo el extracto líquido y se refrigeró a 9 °C. Pasadas 24 horas, se evaporó lo recolectado en baño de agua a 59 °C. Se filtró y se guardó en un frasco ámbar; también se filtraron los 2/4 recolectados de los días anteriores y se guardó en el mismo frasco ámbar.
- A la droga que quedó en el percolador se aumentó mezcla hidroalcohólica equivalente al volumen de las fracciones de extracto anteriormente recogido y se dejó reposar por un día. Después, se recogió el extracto, se evaporó, se filtró y se refrigeró a 9 °C.
- Se unieron todas las fracciones recolectadas y se evaporó en un baño de agua a 59 °C hasta que se llegue a peso constante.
- Se envasó en un frasco ámbar y se refrigeró.

Cálculo:

Ecuación 7 Rendimiento del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

$$n = \frac{M_{ext}}{M_o} * 100$$

Donde:

n = Rendimiento del extracto blando (%).

M_{ext} = Masa del extracto blando (g).

M_o = Peso inicial de la muestra (g).

100 = Factor matemático para los cálculos.

Figura 8 Proceso de percolación del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

3.3. Obtención del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) por medio de la técnica de destilación

Procedimiento:

La obtención del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) se realizó en la Fundación Chankuap de la siguiente manera:

- Se pesó 10890 g de la droga fresca (hojas) libre de materias extrañas y se desinfectó con 35 mL de hipoclorito de sodio al 5 % diluido en agua durante 20 minutos.
- La droga se introdujo en el aparato de destilación con 10 L de agua, aproximadamente por 8 horas, a una temperatura de 300 °C.
- Posteriormente al aceite esencial que se obtuvo, se filtró para eliminar materias extrañas.

Cálculo:

Ecuación 8 Rendimiento del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

$$n = \frac{V * \rho}{M} * 100$$

Donde:

n= Rendimiento del aceite esencial (%).

M= Masa inicial de muestra.

ρ = Densidad del aceite.

V= Volumen del aceite.

100= Factor matemático para los cálculos.

3.4. Control de calidad para el análisis del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

Para realizar el control de calidad del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) se emplearon algunos métodos físico – químicos de análisis, que nos permitieron establecer la calidad y estabilidad del extracto obtenido a partir de la droga cruda.

Estos métodos serán descritos a continuación.

3.4.1. Determinación de la densidad relativa

Materiales: papel absorbente, picnómetro de 5 mL.

Equipos: balanza analítica METTLER TOLEDO modelo ML204/01, baño de agua SHEL – LAB modelo W14M – 2.

Reactivos: extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), agua destilada.

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se calentó el picnómetro en el baño de agua hasta que llegó a una temperatura de 25 °C; se secó con papel absorbente y se pesó por triplicado.
- Se calentó el extracto blando en el baño de agua hasta una temperatura de 25 °C; se llenó el picnómetro con el extracto y se lo mantuvo a una temperatura de 25 °C durante 15 minutos.
- Se secó el picnómetro con papel absorbente y se pesó por triplicado.
- Se realizó el mismo procedimiento con el agua destilada.

Cálculo:

Ecuación 9 Densidad relativa

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

Donde:

D_{25} = Densidad relativa.

M = Peso del picnómetro vacío (g).

M_1 = Peso del picnómetro con la muestra (g).

M_2 = Peso del picnómetro con el agua (g).

3.4.2. Determinación del índice de refracción

Materiales: varilla de vidrio, piceta, vasos de precipitación de 50 mL, mangueras.

Equipos: refractómetro de Abbé ATAGO modelo NAR – 1T, baño de agua SHEL – LAB modelo W14M – 2, bomba de recirculación.

Reactivos: extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), agua destilada.

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se realizó la conexión de la bomba de recirculación con el refractómetro de Abbé y el baño de agua para mantener la temperatura constante (25 °C).
- Para saber si el refractómetro está ajustado se colocó en el prisma de medición una gota de agua destilada que dio la medida de 1.33, y como este valor es el índice de refracción del agua, se evidenció que el equipo estaba ajustado.
- Después de haber confirmado el ajuste del refractómetro, se colocó una gota de la muestra utilizando una varilla de vidrio, sobre el prisma de medición; se cerró el prisma y se enfocó la luz por medio del espejo, haciéndola incidir sobre la apertura de entrada del prisma de medición.

Cálculo:

Se hicieron tres lecturas, las mismas que no difirieron en más de 0,002 y se calculó el promedio de las mismas.

3.4.3. Determinación del pH

Materiales: piceta, vaso de precipitación de 50 mL.

Equipos: potenciómetro METTLER TOLEDO.

Reactivos: extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.).

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se colocó una muestra significativa del extracto en el vaso de precipitación.
- Se encendió el potenciómetro (previamente calibrado) y se retiró la tapa del electrodo que tenía solución buffer y se realizó un lavado con agua destilada.
- Se colocó el electrodo del potenciómetro en el vaso de precipitación con el extracto y se agitó.
- Se dejó estático el electrodo hasta que hubo estabilidad de la lectura del potenciómetro.

Cálculo:

Se hicieron tres lecturas obtenidas del potenciómetro y se realizó un promedio, se expresa hasta la décima.

3.4.4. Determinación de los sólidos totales

Materiales: cápsulas de porcelana previamente taradas, desecador, pipeta volumétrica de 10 mL, pinza, pera de succión.

Equipos: balanza analítica METTLER TOLEDO modelo ML204/01, baño de agua SHEL – LAB modelo W14M – 2, estufa MEMMERT modelo SNB – 400.

Reactivos: extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.).

Procedimiento:

El procedimiento está basado en la metodología de Miranda (2002).

- Se midieron 5 mL del extracto y se colocaron en la cápsula de porcelana previamente tarada. Este proceso se realizó por triplicado.
- Se evaporó sobre baño de agua hasta que el residuo estuvo aparentemente seco y se desecó en la estufa a una temperatura de 105 °C durante 3 horas; se enfriaron las cápsulas en una desecadora durante 15 minutos y se pesaron.

Cálculo:**Ecuación 10 Cantidad de sólidos totales**

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

Donde:

St= Cantidad de sólidos totales (%).

Pr= Masa de la cápsula más el residuo (g).

P= Masa de la cápsula vacía (g).

V= Volumen de la porción de ensayo.

100= Factor matemático para los cálculos.

El resultado se aproxima hasta las décimas.

3.5. Control de calidad para el análisis del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Existen propiedades físicas de los aceites esenciales que necesitan ser caracterizadas y que forman parte del control de calidad para el análisis de éstos.

A continuación se describen algunos parámetros.

3.5.1. Determinación de la densidad relativa

Para determinar la densidad relativa del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) se llevó a cabo la misma metodología que se describió en el apartado 3.4.1.

3.5.2. Determinación del índice de refracción

Para determinar el índice de refracción del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) se llevó a cabo la misma metodología que se describió en el apartado 3.4.2.

3.6. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) por medio de difusión en disco o antibiograma según Kirby-Bauer

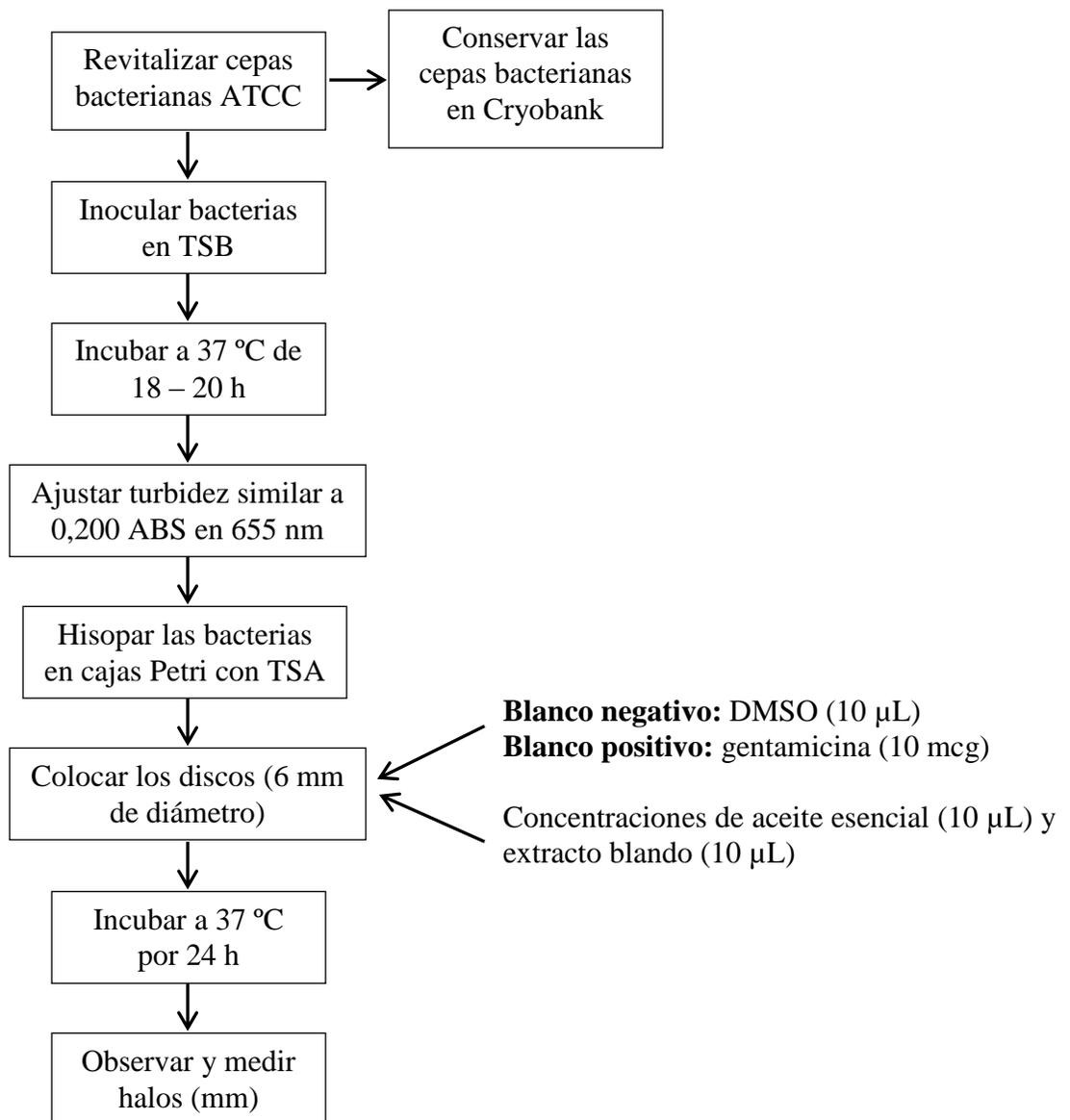
Materiales: tubos de ensayo, cajas petri estériles, gradilla, vasos de precipitación, celdas plásticas para espectrofotómetro, pinzas estériles, asas plásticas desechables estériles, discos de papel para antibiograma estériles (6 mm de diámetro), discos de gentamicina de 10 mcg (6 mm de diámetro), hisopos de algodón estériles, micropipeta graduada, puntas de plástico para micropipeta estériles, roll of pack, regla pie de rey, cepas bacterianas KWIK-STIK™ de Microbiologics (*Escherichia coli* ATCC 11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990).

Equipos: balanza analítica METTLER TOLEDO modelo ML204/01, agitador THERMOLYNE modelo M65825, incubadora SHEL – LAB modelo 120VAC, vortex MIXER modelo VM – 300, cámara de flujo laminar FORMA SCIENTIFIC

modelo 1845, espectrofotómetro SHIMADZU modelo uvmini – 1240, centrifugadora SELECTA modelo 540, autoclave TUTTNAVER modelo 3870 M, refrigeradora no frozen INDURAMA.

Reactivos: aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), caldo tripticasa - soja (TSB), agar tripticasa soya (TSA), dimetilsulfóxido (DMSO), suero fisiológico estéril.

Diagrama de flujo del proceso:



Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

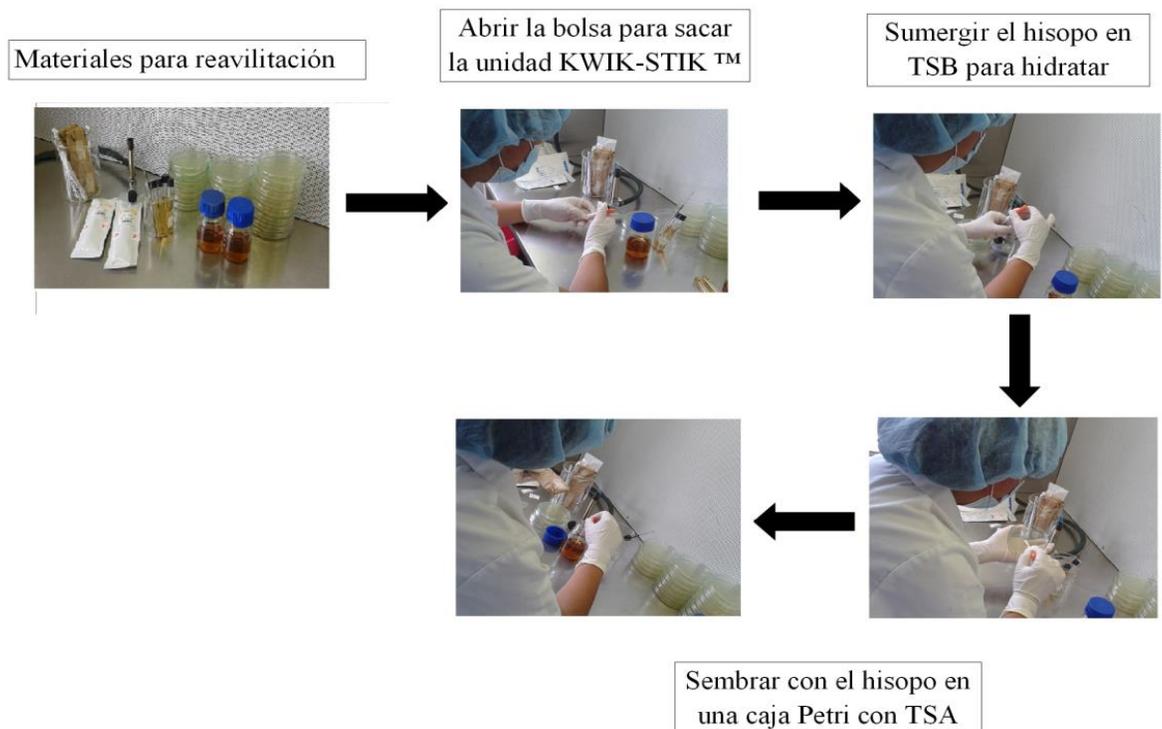
3.6.1. Revitalización de las cepas bacterianas

Todas las cepas bacterianas ATCC (ver Anexos 1, 2, 3 y 4) vinieron en un hisopo liofilizado (KWIK-STIK™), cuyo procedimiento está basado en la metodología de Microbiologics (2011):

- Abrir la bolsa y sacar la unidad KWIK-STIK™.
- Quitar la parte removible de la etiqueta.
- Abrir suavemente, e inmediatamente sumergir el hisopo en caldo TSB por unos 30 segundos para hidratarlo.
- Ya hidratado el hisopo, sembrar en una caja Petri con TSA haciendo trazos en zigzag.
- Sellar la caja Petri e incubar por 24 h a 37 °C para posteriores usos.

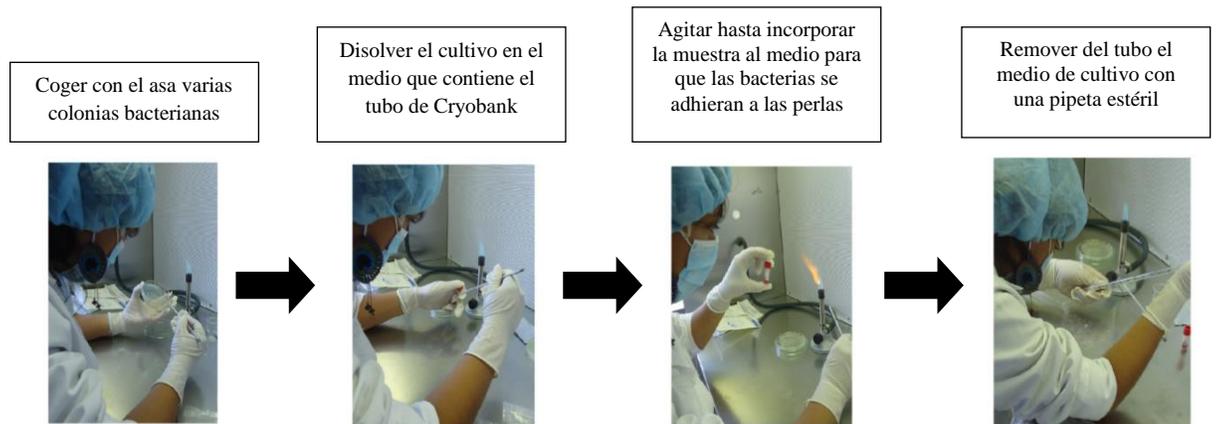
Nota: para conservar las bacterias ATCC a largo plazo es necesario almacenarlas en refrigeración en el Cryobank.

Figura 9 Revitalización de cepas bacterianas ATCC



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 10 Conservación de cepas bacterianas ATCC



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

3.6.2. Elaboración de las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

Se utilizó DMSO como medio de disolución (10 mL) para elaborar los diferentes porcentajes de concentración para el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.).

Estos porcentajes fueron: 5 %, 2 %, 1 %, 0,50 %, 0,20 %, 0,10 %, 0,05 % y 0,02 %.

Figura 11 Concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Se utilizó DMSO como medio de disolución (10 mL) para elaborar las diferentes partes por millón (ppm) de concentración para el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.).

Estas partes por millón: 640 ppm, 320 ppm, 160 ppm, 80 ppm, 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm y 5 ppm.

Figura 12 Concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

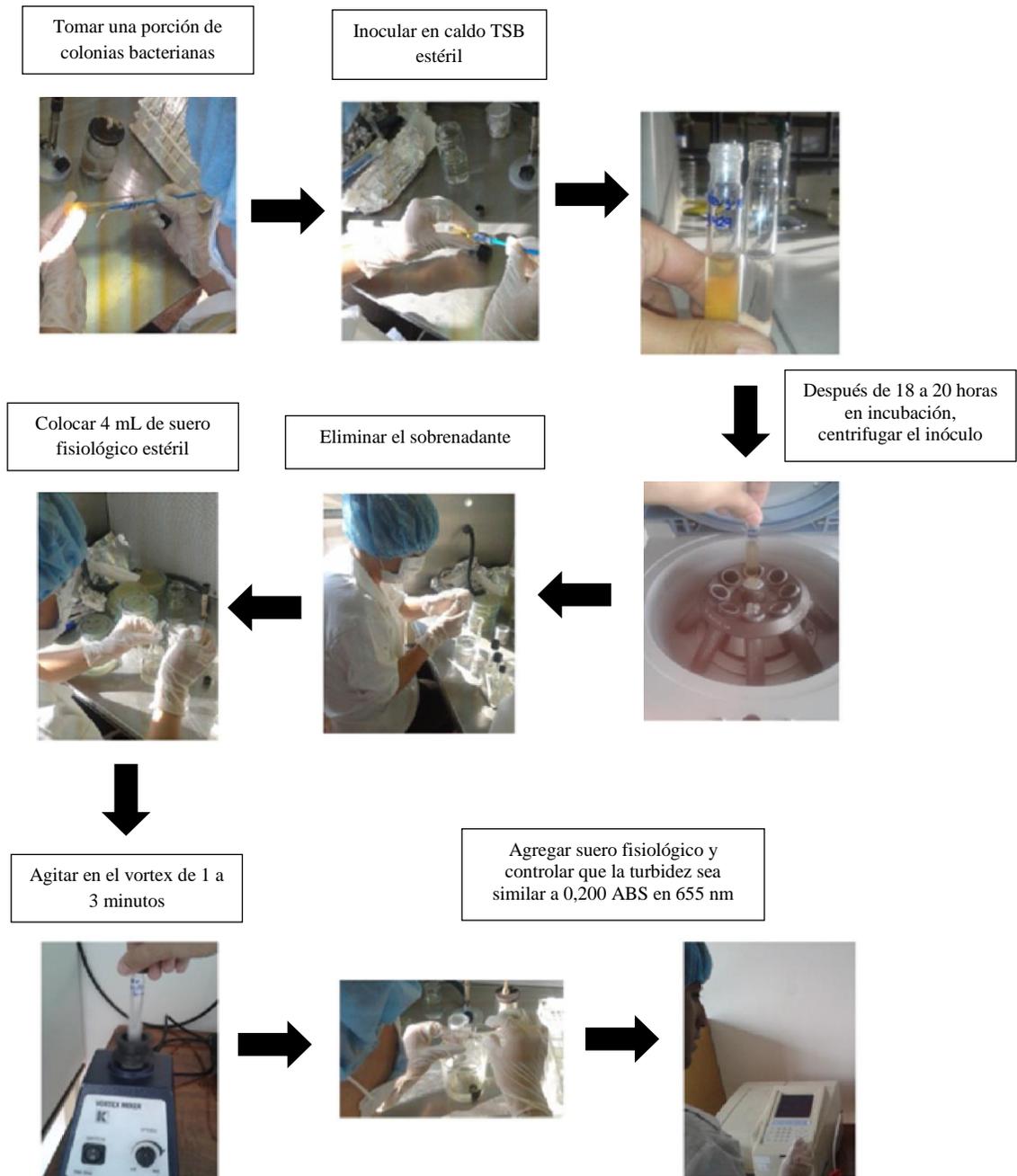


Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

3.6.3. Elaboración del inóculo bacteriano

- De una caja Petri de cepas bacterianas, se tomó una porción de colonias para inocularlas en un tubo de ensayo con caldo TSB estéril.
- Se llevó el tubo de ensayo con el inóculo bacteriano a la incubadora por aproximadamente 18 a 20 horas a 37 °C.
- Pasado el tiempo de incubación, los tubos de ensayo con el inóculo bacteriano fueron llevados a la centrifugadora por 20 minutos a 3500 rpm.
- Se eliminó el sobrenadante de tal manera que solo quedó el pellet de biomasa, se colocó 4 mL de suero fisiológico estéril y se agitó en el vortex de 1 a 3 minutos, hasta que las cepas se suspendieron en el suero fisiológico.
- Se agregó de a poco el suero fisiológico estéril controlando para que se llegue a una turbidez similar a 0,200 de absorbancia en una longitud de onda de 655 nm, para de esta manera obtener un inóculo de 10^6 UFC/mL.

Figura 13 Elaboración del inóculo bacteriano



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

3.6.4. Inoculación en las placas

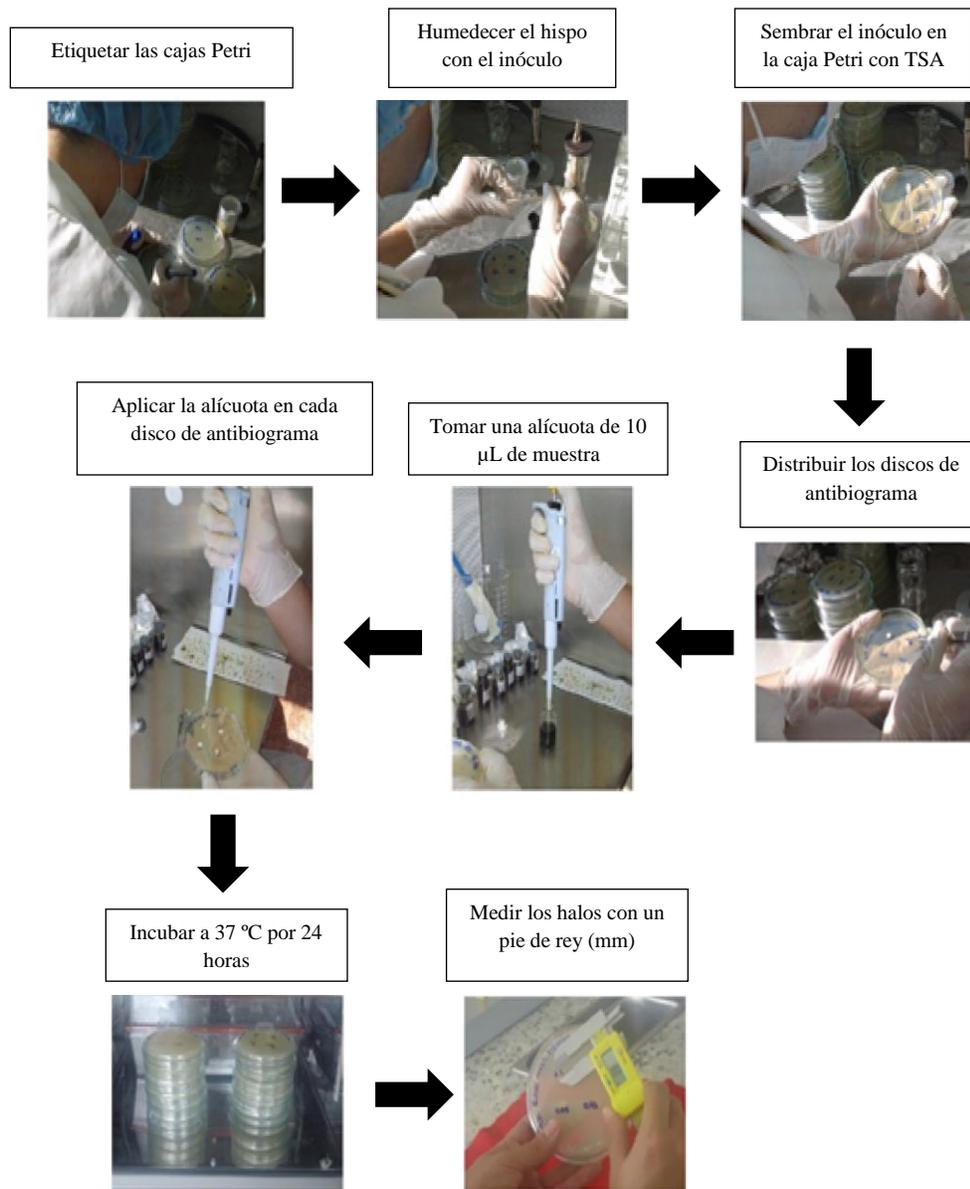
Este procedimiento está basado en la metodología de Gamazo, López-Goñi, y Díaz (2005).

- Luego de haber ajustado la turbidez del inóculo se embebió el hisopo con éste y se sembró en las cajas Petri que contenían TSA, cubriendo toda la superficie del agar, haciendo giros de aproximadamente 60°.
- Se dejó secar por unos 5 minutos aproximadamente.
- Se colocaron los discos de papel para antibiograma previamente estériles.
- Una vez colocados los discos en las cajas Petri, con una micropipeta graduada se colocaron 10 µL en cada disco de las diferentes concentraciones tanto del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del blanco negativo (DMSO). El disco del blanco positivo se lo colocó directamente (10 mcg de gentamicina).
- El procedimiento se realizó por sextuplicado.
- Las cajas Petri listas se colocaron en la incubadora a 37 °C por 24 horas.

Lectura de resultados:

La lectura de los resultados se realizó a las 24 horas utilizando la regla pie de rey para medir el diámetro de los halos que se formaron.

Figura 14 Inoculación de las bacterias ATCC en las placas



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

3.6.5. Análisis estadístico

Se realizó la prueba estadística de Kruskal-Wallis que determina si tres o más grupos de datos poseen medianas similares o no (entre bloques), en el programa Statistix 8.0.

Seguido, se determinó la semejanza entre grupos, mediante una prueba *a posteriori*, en la que se seleccionaron los mejores resultados de los halos de inhibición para poder realizar la formulación del jabón líquido antibacteriano.

Para el test Kruskal-Wallis se plantearon las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula: las concentraciones utilizadas en el estudio de la actividad antibacteriana tienen medianas del diámetro de los halos de inhibición estadísticamente similares.

Hipótesis alternativa: el valor de la mediana del diámetro del halo de inhibición generado por al menos una de las concentraciones es diferente.

Nivel de significancia (alfa): 0.05

Estadístico de la prueba: H

Decisión: se acepta la hipótesis alternativa si el valor de H calculado tiene una probabilidad asociada menor al alfa escogido ($p < 0.05$).

3.7. Elaboración del jabón líquido antibacteriano

Materiales: vasos de precipitación de 400 mL, espátulas plásticas, espátulas metálicas.

Equipos: plancha de calentamiento VELP SCIENTIFICA modelo F20510100, balanza analítica METTLER TOLEDO modelo ML204/01, potenciómetro METTLER TOLEDO.

Reactivos: texapón, glicerina, dietanolamida, lanolina, betaína, perfume, propilenglicol, sal, agua, ácido cítrico, extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Formulación del jabón:

Teniendo en cuenta los datos arrojados por las pruebas estadísticas del antibiograma, se hicieron tres formulaciones de jabón líquido antibacteriano.

Las cantidades utilizadas de materia prima para cada una de las fórmulas están detalladas en la tabla 10.

Tabla 7 Formulación de los jabones líquidos antibacterianos

Nomenclatura INCI	Nomenclatura comercial	Fórmula 1	Fórmula 2	Fórmula 3
Sodium Lauryl Ether Sulphate	texapon	10 %	10 %	10 %
Glycerin	glicerina	2 %	2 %	2 %
Cocamide dea	dietanolamida	3 %	3 %	3 %
Lanolin	lanolina	1 %	1 %	1 %
Cocamidopropyl betaine	betaína	2 %	2 %	2 %
Parfum	perfume	0,2 %	0,2 %	0,2 %
Propylene glicol	propilenglicol	0,2 %	0,2 %	0,2 %
Sodium chloride	Sal	2 %	2 %	2 %
Citric acid	acido cítrico	0,05 %	0,05 %	0,05 %
Water	agua	81,50 %	81,50 %	81,50 %
Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)	5 %	2 %	2 %
Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)	40 ppm (0,004 %)	320 ppm (0,032 %)	640 ppm (0,064 %)

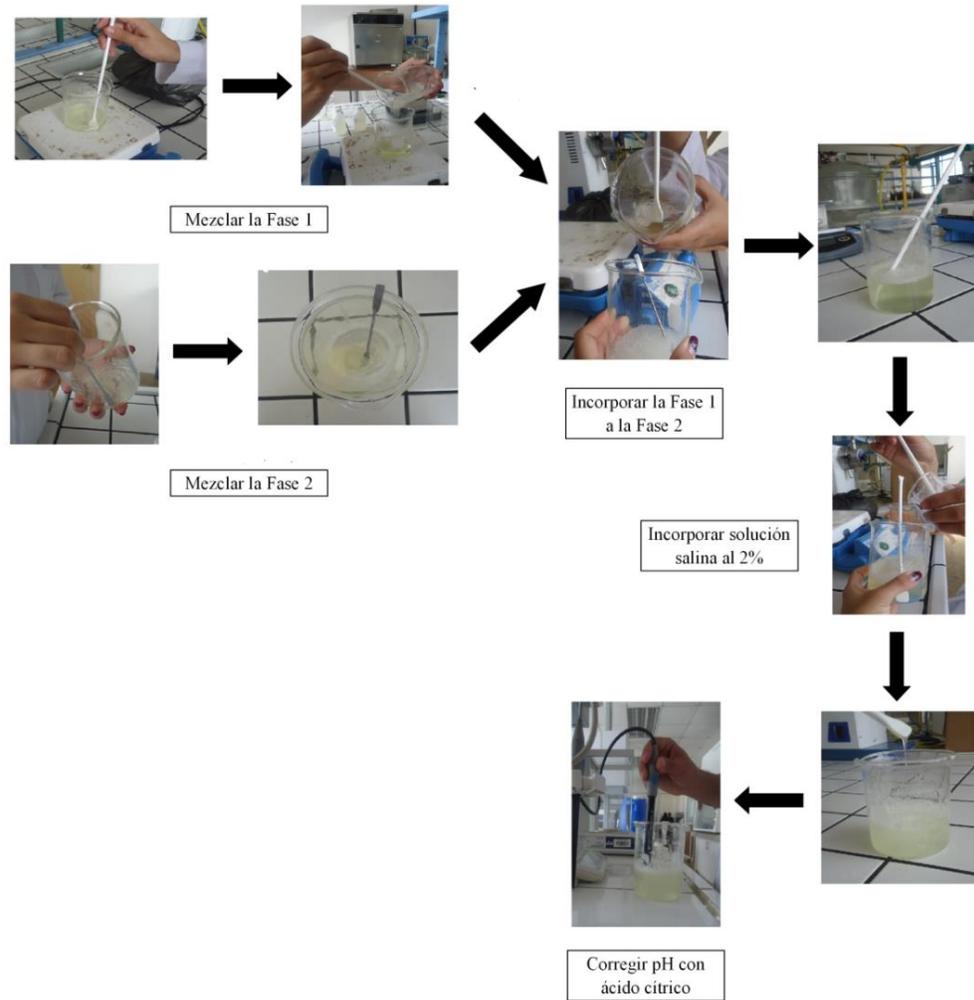
Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Procedimiento:

- Fase 1: en un vaso de precipitación se disolvió la lanolina en agua caliente (se utilizó aproximadamente el 50 % del total); se agregó el texapón, que con agitación controlada se logró una disolución total. En esta fase se agregó el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.).
- Fase 2: en otro vaso de precipitación se añadió la dietanolamida, betaína, el perfume y el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.); se agitó hasta la total incorporación de todos los componentes; se añadió la glicerina, el propilenglicol y el 30 % más de agua.

- Se incorporó lentamente la fase 1 a la fase 2.
- En un tercer vaso de precipitación se realizó una solución de sal al 2 % que se incorporó a la mezcla anterior con agitación constante.
- El pH se corrigió a 6,7 con ácido cítrico.

Figura 15 Elaboración del jabón líquido antibacteriano



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

3.8. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de algunas marcas comerciales por medio de difusión en disco o antibiograma según Kirby-Bauer

Para realizar el estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido elaborado y de las tres marcas comerciales, se llevó a cabo la misma metodología que se describió

en el apartado 3.7; aunque en este caso, en vez de preparar las concentraciones, se utilizaron los jabones líquidos directamente sobre los discos de antibiograma.

Se realizaron las mismas pruebas estadísticas para poder contrastar los resultados del jabón líquido antibacteriano elaborado, con los resultados obtenidos de las tres marcas del mercado.

3.9. Control de calidad del jabón líquido antibacteriano elaborado

Con el propósito de garantizar que las formulaciones cumplan ciertas especificaciones de la ficha técnica de producto terminado de jabón líquido para manos y cuerpo de la industria INDULATEX S.A. (2010) (ANEXO 5), se realizaron ensayos de carácter sensorial y físico – químicos que serán descritos a continuación.

3.9.1. Características sensoriales

El método que se utilizó para determinar las características sensoriales de las tres formulaciones fue a través de un análisis sensorial en el que se determinaron las siguientes características: apariencia, color y olor.

3.9.2. Características físico – químicas

3.9.2.1. Determinación del pH

Para determinar el pH de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano se llevó a cabo la misma metodología que se describió en el apartado 3.4.3.

3.9.2.2. Determinación de la densidad

Para determinar la densidad de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano se llevó a cabo la misma metodología que se describió en el apartado 3.4.1. pero a una temperatura de 20 °C.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Control de calidad de la droga

4.1.1. Determinación de materia extraña

Tabla 8 Determinación de materia extraña para el paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Masa de la materia extraña (X) (g)	1,83	Masa inicial de la droga (M) (g)	100
	1,81		100
	1,81		100
Promedio X	1,82	Promedio de M	100

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: el cálculo de la determinación de materia extraña está basado en la ecuación 1.

Porcentaje de materia extraña del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) = 1,82 %

Tabla 9 Determinación de la materia extraña para el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

Masa de la materia extraña (X) (g)	1,74	Masa inicial de la droga (M) (g)	100
	1,71		100
	1,73		100
Promedio X	1,73	Promedio de M	100

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: la determinación de la materia extraña está basa en la ecuación 1.

Porcentaje de materia extraña del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = 1,73 %

El porcentaje de materia extraña en el paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es del 1,82 % y en el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es del 1,73 %; que de acuerdo a la Farmacopea Argentina (2008), el porcentaje en droga cruda es hasta el 2 %; por lo tanto los porcentajes de las drogas en la investigación están en un rango adecuado, demostrando que no hubo una gran cantidad de materia que interfiera en los procesos posteriores.

4.1.2. Determinación de cenizas totales

Tabla 10 Determinación de cenizas totales del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

	Cápsula 1	Cápsula 2	Cápsula 3
Masa de la cápsula vacía (M) (g)	29,606	26,2684	23,6923
Muestra (g)	2,0000	2,0000	2,0000
Masa de la cápsula con porción de ensayo (M ₁) (g)	31,6018	28,265	25,4355
Masa de la cápsula con la ceniza (M ₂) (g)	29,6558	26,3246	23,7445
	29,6561	26,3244	23,7449
	29,6559	26,3248	23,7446
M2 después de 15 minutos (g)	29,6555	26,3241	23,7440
	29,6556	26,3239	23,7444
	29,6556	26,3243	23,7445
Promedio de M2 después de 15 minutos (g)	29,6556	26,3241	23,7443
Porcentaje de cenizas totales (C) (%)	2,4852	2,7897	2,9830

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: el cálculo de la determinación de cenizas totales se basa en la ecuación 2.

Promedio de C = 2,7527 %

Cenizas totales presentes en paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) = 2,8 %

Tabla 11 Determinación de cenizas totales del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

	Cápsula 4	Cápsula 5	Cápsula 6
Masa de la cápsula vacía (M) (g)	28,6234	24,003	24,7286
Muestra (g)	2,0000	2,0000	2,0000
Masa de la cápsula con porción de ensayo (M₁) (g)	30,567	26,0368	26,7222
Masa de la cápsula con la ceniza (M₂) (g)	28,6758	24,0578	24,7838
	28,6754	24,0581	24,7835
	28,6755	24,0583	24,7836
M2 después de 15 minutos	28,6753	24,0573	24,7833
	28,6757	24,0576	24,7831
	28,6758	24,0578	24,7833
Promedio de M2 después de 15 minutos (g)	28,6756	24,0576	24,7832
Porcentaje de cenizas totales (C) (%)	2,6857	2,6830	2,7404

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: el cálculo de la determinación de cenizas totales se basa en la ecuación 2.

Promedio de C = 2,7031 %

Cenizas totales presentes en marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = 2,7 %

El porcentaje de cenizas totales en el paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es del 2,8 % y en el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es del 2,7 %; que según lo establecido en las normas de los rangos permisibles para el análisis físico – químico de las muestras, que se mencionan en estudios realizados por Carballo, y otros (2002), este porcentaje en droga cruda es hasta el 16 %; por lo tanto, los porcentajes de las drogas en investigación presentaron bajos niveles de minerales totales.

4.1.3. Determinación de cenizas solubles en agua

Tabla 12 Determinación de cenizas solubles en agua del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

	Cápsula 1	Cápsula 2	Cápsula 3
Masa de la cápsula vacía (M) (g)	29,606	26,2684	23,6923
Masa de la cápsula con la porción de ensayo (M ₁) (g)	31,6018	28,2650	25,4355
Masa de la cápsula con las cenizas totales (M ₂) (g)	29,6556	26,3243	23,7448
Masa de la cápsula con las cenizas solubles en agua (M _a) (g)	29,6282 29,6288 22,6286	26,2967 26,2964 26,2965	23,7170 23,7171 23,7173
M _a después de 15 minutos (g)	29,6280 29,6283 29,6285	26,2965 26,2962 26,296	23,7168 23,7166 23,7169
Promedio de M _a después de 15 minutos (g)	29,6283	26,2962	23,7168
Porcentaje de cenizas solubles en agua (Ca) (%)	1,3695	1,4057	1,6082

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: La determinación de cenizas solubles en agua se basa en la ecuación 3.

Promedio de Ca = 1,4611 %

Cenizas solubles en agua del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) = 1,5 %

Tabla 13 Determinación de cenizas solubles en agua del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

	Cápsula 4	Cápsula 5	Cápsula 6
Masa de la cápsula vacía (M) (g)	28,6234	24,003	24,7286
Masa de la cápsula con la porción de ensayo (M₁) (g)	30,567	26,0368	26,7222
Masa de la cápsula con las cenizas totales (M₂) (g)	28,676	24,058	24,7833
Masa de la cápsula con las cenizas solubles en agua (M_a) (g)	28,6511	24,0265	24,7605
	28,6512	24,0263	24,7608
	28,6515	24,0266	24,7609
M_a después de 15 minutos (g)	28,6506	24,0256	24,7603
	28,6505	24,0258	24,7606
	28,651	24,0261	24,7604
Promedio de M_a después de 15 minutos (g)	28,6507	24,0258	24,7604
Porcentaje de cenizas solubles en agua (Ca) (%)	1,3017	1,5816	1,147

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: La determinación de cenizas solubles en agua se basa en la ecuación 3.

Promedio de Ca = 1,3434 %

Cenizas solubles en agua del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = 1,3 %

El porcentaje de cenizas solubles en agua en el paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es del 1,5 % y en el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es del 1,3 %; que de acuerdo al límite máximo permisible en el control de calidad de droga cruda mencionado por Bucay (2009) es del 12 %, son porcentajes adecuados que indican que hubo bajo contenido de materia orgánica en las drogas en investigación.

4.1.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Tabla 14 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del paico
(*Chenopodium ambrosioides* L.)

	Cápsula 1	Cápsula 2	Cápsula 3
Masa de la cápsula vacía (M) (g)	25,1653	27,1995	25,2224
Masa de la cápsula con la porción de ensayo (M ₁) (g)	27,2551	29,2287	27,3071
Masa de la cápsula con las cenizas totales (M ₂) (g)	25,2256	27,2622	25,2827
Masa de la cápsula con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (M _a) (g)	25,1752 25,1749 25,175	27,2136 27,2133 27,2138	25,2372 25,277 25,2769
Ma después de 15 minutos	25,1750 25,1748 25,1749	27,2134 27,2132 27,2135	25,2369 25,2367 25,2368
Promedio de Ma luego de 15 minutos (g)	25,1749	27,2134	25,2368
Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico (B) (%)	2,4261	2,4065	2,2018

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: La determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico se basa en la ecuación 4.

Promedio de B = 2,3448 %

Cenizas insolubles en ácido clorhídrico del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)
= 2,3 %

Tabla 15 Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del marco
(*Ambrosia arborescens* Mill.)

	Crisol 1	Crisol 2	Crisol 3
Masa de la cápsula vacía (M) (g)	16,7641	24,5309	18,1540
Mása de la cápsula con la porción de ensayo (M₁) (g)	18,8531	26,5491	20,2243
Masa de la cápsula con las cenizas totales (M₂) (g)	16,8135	24,5770	18,2030
Masa de la cápsula con las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (M_a) (g)	16,7716 16,7714 16,7713	24,532 24,5319 24,5317	18,1561 18,1563 18,1559
Ma después de 15 minutos	16,7712 16,7711 16,7711	24,5316 24,5315 24,5315	18,1558 18,1557 18,1559
Promedio de Ma luego de 15 minutos (g)	16,7711	24,5315	18,1558
Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico (B) (%)	2,0281	2,2528	2,2799

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: La determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico se basa en la ecuación 4.

Promedio de B = 2,1869 %

Cenizas insolubles en ácido clorhídrico del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)
= 2,2 %

El porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en el paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es del 2,3 % y en el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es del 2,2 %; y conforme al porcentaje del límite máximo permisible para el control de calidad de la droga cruda, de 5 %, mencionado por Bucay (2009), son porcentajes adecuados que indican que las drogas en investigación no tenían alto contenido de arena y tierra silíceas.

4.1.5. Determinación del contenido de humedad en droga fresca

Tabla 16 Determinación del contenido de humedad del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

	Cápsula 1	Cápsula 2	Cápsula 3
Masa de la cápsula vacía (M) (g)	25,1624	25,2192	27,1974
Masa de la cápsula con la porción de ensayo (M ₂) (g)	27,1631	27,2192	29,1993
Masa de la cápsula con la porción de ensayo desecada (M ₁) (g)	25,4364 25,4374 25,4376	25,4948 25,4957 25,4958	27,4806 27,4818 27,482
M ₁ después de 1 hora (g)	25,435 25,4367 25,4374	25,4934 25,4946 25,495	27,4788 27,4807 27,4809
Promedio de M ₁ después de 1 hora (g)	25,4364	25,4943	27,4801
Porcentaje de contenido de humedad (Hg) (%)	86,3065	86,2433	86,1422

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: La determinación de humedad se basa en la ecuación 5.

Promedio de Hg = 86,1422 %

Contenido de humedad en el paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) = 86,1 %

El contenido de humedad en el paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es de 86,1 % y el valor de la investigación realizada por León (2009) sobre “Estudio de la extracción y determinación de la composición química del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)”, es de 72 %. Según las publicaciones de Cedeño (2013), el valor del ensayo realizado posiblemente difiere con el de León (2009), debido a los diferentes factores físicos, ambientales y biológicos que afectaron la zona de desarrollo donde crecieron las muestras a ser analizadas.

4.1.6. Determinación del contenido de humedad en droga seca

Tabla 17 Determinación del contenido de humedad del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

	Crisol 1	Crisol 2	Crisol 3
Masa de la cápsula vacía (M) (g)	26,2721	24,0031	23,694
Masa de la cápsula con la porción de ensayo (M ₂) (g)	28,2726	26,0034	25,6944
Masa de la cápsula con la porción de ensayo desecada (M ₁) (g)	28,1229 28,1251 28,1261	25,8539 25,8563 25,8585	25,5544 25,5562 25,5579
M ₁ después de 1 hora	28,117 28,1166 28,116	25,8454 25,845 25,8449	25,5418 25,5412 25,5405
Promedio de M ₁ después de 1 hora (g)	28,1165	28,8451	25,5412
Contenido de humedad (Hg) (%)	7,8014	7,9138	7,7918

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: la determinación de humedad se basa en la ecuación 5.

Promedio de Hg = 7,7918 %

Contenido de humedad en el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = 7,8 %

El contenido de humedad en el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es de 7,8 % y en comparación con el valor de la investigación realizada por Cruz (2009) sobre “Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco” de 7,3 %; no existe mayor diferencia, además está dentro de las especificaciones dadas por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos de Droga Cruda INEN, cuyo rangos permisibles están entre 7 a 14 % (Cruz, 2009).

4.1.7. Determinación de sustancias solubles

Tabla 18 Determinación de sustancias solubles del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

	Cápsula 1	Cápsula 2	Cápsula 3
Masa de la muestra (g)	5,0000	5,0000	5,0000
Humedad de la muestra (%)	86,1422	86,1422	86,1422
Masa de la cápsula (M_1) (g)	24,7318	23,6927	26,2687
Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (M_2)(g)	24,7702	23,7314	26,3075
Masa del residuo de la muestra $M_1 - M_2$ (R) (g)	0,0384	0,0387	0,0388
Sustancias solubles (Ss) (%)	27,7100	27,9265	27,9987

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: la determinación de sustancias solubles se basa en la ecuación 6.

Promedio de Ss = 27,8784 %

Sustancias solubles del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) = **27,9 %**

Tabla 19 Determinación de sustancias solubles del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

	Crisol 1	Crisol 2	Crisol 3
Masa de la muestra (g)	5,0000	5,0000	5,0000
Humedad de la muestra (%)	7,7918	7,7918	7,7918
Masa de la cápsula (M_1) (g)	28,6271	18,1697	24,5311
Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (M_2) (g)	28,8523	18,3952	24,7564
Masa del residuo de la muestra $M_1 - M_2$ (R) (g)	0,2252	0,2255	0,2253
Sustancias solubles (Ss) (%)	24,4230	24,4555	24,4338

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: la determinación de sustancias solubles se basa en la ecuación 6.

Promedio de Ss = 24,4374 %

Sustancias solubles del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = **24,4 %**

Como cita Aragadvay (2009), el contenido de sustancias solubles en una droga, indica la cantidad de compuestos que serán responsables del efecto farmacológico, por lo que las sustancias solubles del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es del 27,9 % y las del marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es del 24,4 %.

4.2. Rendimiento del proceso para la obtención del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

Tabla 20 Masas para obtener el rendimiento del proceso para la obtención del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

Masa inicia de la muestra (M_0) (g)	1500	Masa del extracto blando M_{ext} (g)	40,6042
	1502		40,6045
	1505		40,6043
Promedio M_0 (g)	1502,3	Promedio de M_{ext} (g)	40,6043

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: la determinación del rendimiento del proceso de obtención del extracto blando se basa en la ecuación 7.

Rendimiento del proceso para la obtención del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = 2,7 %

El rendimiento del proceso para la obtención del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es de 2,7 %, y relacionando este resultado con el presentado por Vera (2008) sobre “Estudio fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador: *Ambrosia arborescens*”, de 9,56 %, es un rendimiento bastante bajo, pudiendo asumirse esta diferencia a parámetros diferentes que se manejaron en el proceso de elaboración de los extractos. Estos parámetros son comparados en la tabla 21.

Tabla 21 Diferencias de los procesos para la elaboración del extracto de marco
(*Ambrosia arborescens* Mill.)

Parámetros	Tesis de Ibarra y Paredes (2013)	Tesis de Vera (2008)
Material vegetal inicial	1502,3 g	230 g
Solvente de extracción	Mezcla hidroalcohólica (70 % de alcohol de 96° y 30 % de agua)	metanol
Tiempo de maceración	9 días	4 semanas
Temperatura para la concentración del extracto	45 °C	40 °C

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.3. Rendimiento del proceso para la obtención del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Tabla 22 Datos para obtener el rendimiento del proceso de extracción del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Masa inicial de la muestra (M) (g)	10890
Densidad del aceite (ρ) (g/mL)	0,8929
Volumen del aceite (mL)	17

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: El cálculo del rendimiento se basa en la ecuación 8.

Rendimiento del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) = 0,14 %

En la extracción del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) hubo un rendimiento de 0,14 %; y teniendo como referente el estudio de León (2009) sobre “Estudio de la extracción y determinación de la composición química del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)”, en el que se menciona un rendimiento de extracción del 0,35 %, fue un rendimiento bajo que como mencionan Tafurt, Jairo, Martínez y Stashenko (2005), puede deberse a la diferencia de condiciones agroecológicas del cultivo ya que inducen cambios morfológicos, histológicos y fisiológicos en la planta, y a los distintos parámetros operacionales del

proceso de extracción tales como tiempo, temperatura de extracción y cantidad de agua empleada.

Tabla 23 Diferencias de los procesos para la extracción del aceite esencial de paico
(*Chenopodium ambrosioides* L.)

Parámetros	Tesis de Ibarra y Paredes (2013)	Investigación de León (2009)
Tiempo de extracción	480 minutos	60 minutos
Temperatura de extracción	96 °C	95 °C
Volumen de agua	10 L	5 L

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.4. Control de calidad para el análisis del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

4.4.1. Determinación de la densidad relativa

Tabla 24 Determinación de la densidad relativa del extracto blando de marco
(*Ambrosia arborescens* Mill.)

	1	2	3
Masa del picnómetro con la muestra (M ₁) (g)	35,6329	35,2331	35,6328
Masa del picnómetro con el agua M ₂ (g)	36,5152	36,5153	36,5152
Masa del picnómetro vacío (M) (g)	27,0346	27,0345	27,0348
Densidad relativa (D ₂₅)	0,9069	0,8648	0,9069

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: la determinación de la densidad relativa se basa en la ecuación 9.

Promedio de D₂₅ = 0,8929

Densidad relativa del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = 0,893

La densidad relativa obtenida del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es de 0,893 y en comparación con el valor de la investigación realizada por Cruz (2009) sobre “Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco”, de 0,833; nos indica que no existe una mayor diferencia, que seguramente radica en las distintas condiciones de trabajo a las que fueron sometidas las plantas para la obtención del extracto blando como menciona Tafurt, Jairo, Martínez y Stashenko (2005).

4.4.2. Determinación del índice de refracción

Tabla 25 Datos para la determinación del índice de refracción del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

	1	2	3
Valor leído en el refractómetro	1,364	1,364	1,363
Temperatura de medición (°C)	25	25	25

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Promedio del índice de refracción = 1,3635

Índice de refracción del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = 1,364

El índice de refracción obtenido del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es de 1,364 y en comparación con el valor de la investigación realizada por Cruz (2009) sobre “Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco”, de 1,370; el valor se corroboró, lo que demuestra que se tuvo un margen mínimo de error en el ensayo realizado, y sustenta la identidad del extracto debido a que el índice de refracción es específico (Garcés y Reyes, 1997).

4.4.3. Determinación del pH

Tabla 26 Datos para la determinación del pH del extracto blando de marco
(*Ambrosia arborescens* Mill.)

	1	2	3
Valor de pH	6,810	6,790	6,800

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Promedio de pH = 6,800

pH del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = 6,8

El pH obtenido del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es de 6,8 y comparado con el valor de 6,3 de la investigación realizada por Cruz (2009) sobre “Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguetia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo-fármaco”, indica que existe diferencia debido a posibles causas como uso de diferentes equipos, diferente método de análisis, diferentes condiciones climáticas, etc., incertidumbres que dejan margen de error.

4.4.4. Determinación de los sólidos totales

Tabla 27 Determinación de los sólidos totales del extracto blando de marco
(*Ambrosia arborescens* Mill.)

	Cápsula 1	Cápsula 2	Cápsula 3
Masa de la cápsula vacía (P) (g)	24,7332	23,6943	24,0029
Volumen de la porción de ensayo (V) (mL)	5,0000	5,0000	5,0000
Masa de la cápsula mas el residuo (Pr) (g)	24,8477 24,8481 24,8478	23,8097 23,8099 23,8097	24,1182 24,1185 24,1183
Promedio Pr (g)	24,8479	23,8098	24,1183
Sólidos totales (St) (%)	2,2933	2,3093	2,3098

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota la determinación de sólidos totales se basa en la ecuación 10.

Promedio de St = 2,3038 %

Sólidos totales del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) = 2,3 %

El porcentaje de sólidos totales obtenido del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es de 2,3 % y relacionando este valor con el mencionado por Cruz (2009); de un máximo de 6 % de sólidos totales, el extracto blando se encuentra en los rangos permisibles.

4.5. Control de calidad para el análisis del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

4.5.1. Determinación de la densidad relativa

Tabla 28 Determinación de la densidad relativa del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

	1	2	3
Masa del picnómetro vacío (M) (g)	27,0957	27,0958	27,0959
Masa del picnómetro con la muestra (M₁) (g)	35,5259	35,5258	35,5256
Masa del picnómetro con el agua (M₂) (g)	36,4351	36,4352	36,435
Densidad relativa (D₂₅)	0,9026	0,9026	0,9026

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: la determinación de la densidad relativa se basa en la ecuación 9.

Promedio de D₂₅ = 0,9026

Densidad relativa del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) = 0,9026

La densidad relativa que se obtuvo del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es de 0,9026 y comparada con la de la investigación realizada por León (2009) sobre “Estudio de la extracción y determinación de la composición química del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)”, de 0,8923; nos indica que si existe diferencia y seguramente se debe a las diferentes condiciones

de trabajo a las que fueron sometidas las plantas para poder determinar su densidad relativa.

4.5.2. Determinación del índice de refracción

Tabla 29 Datos para la determinación del índice de refracción del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

	1	2	3
Valor leído en el refractómetro	1,472	1,471	1,472
Temperatura de medición (°C)	25	25	25

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Media del índice de refracción = 1,472

Índice de refracción del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) = 1,472

El índice de refracción que se encontró en el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es de 1,472 y de acuerdo al valor de 1,476 que se obtuvo en la investigación realizada por León (2009) sobre “Estudio de la extracción y determinación de la composición química del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)”; demuestra que casi no hubo diferencia, ya que el índice de refracción es específico (Garcés y Reyes, 1997).

4.6. Elaboración de las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

Tabla 30 Datos para la elaboración de las concentraciones de aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Concentración teórica (% v/v= µL/mL)	Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.) (µl)	DMSO (ml)	Concentración real (% v/v= µL/mL)
5 %	250	5	4,76 %
2 %	100	5	1,96 %
1 %	50	5	0,99 %
0,50 %	50	10	0,49 %
0,20 %	20	10	0,20 %
0,10 %	10	10	0,10 %
0,05 %	5	10	0,05 %
0,02 %	2	10	0,02 %

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Tabla 31 Datos para la elaboración de las concentraciones de extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.)

Concentración teórica (ppm = µg/g)	Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.) (µg)	DMSO (ml)	Concentración real (ppm = µg/g)
5	50	10	4,5
10	100	10	9,1
20	200	10	18
40	400	10	36
80	800	10	72
160	1600	10	145
320	3200	10	290
640	6400	10	581,5

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: para trabajar los ppm en peso/peso la densidad del DMSO es 1,1

En la presente investigación se hizo alusión a dos tipos de concentraciones: la real y la teórica. En el laboratorio se utilizó la concentración teórica que es la proporcionada por la técnica; los porcentajes y las partes por millón de las concentraciones reales tanto del aceite esencial como del extracto blando constan en las tablas 30 y 31, respectivamente, pero no fueron tomadas en cuenta debido al margen de error que genera la manipulación de los materiales.

4.7. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) por medio de difusión en disco o antibiograma

Los resultados que se obtuvieron al realizar el estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) por medio de difusión en disco o antibiograma, están en función de la interpretación de los halos obtenidos y del análisis estadístico. No se compararon con otros datos puesto que no existen estudios similares que se hayan hecho anteriormente.

4.7.1. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en *Escherichia coli* ATCC 11229

Tabla 32 Diámetro de los halos obtenidos en mm del blanco positivo y blanco negativo de *Escherichia coli* ATCC 11229 para el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

Número de repeticiones del ensayo	Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)			Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Blanco positivo (500 µg de gentamicina)	20	20	20	24,3	22,8	24,6
Blanco negativo (10 µL de DMSO)	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

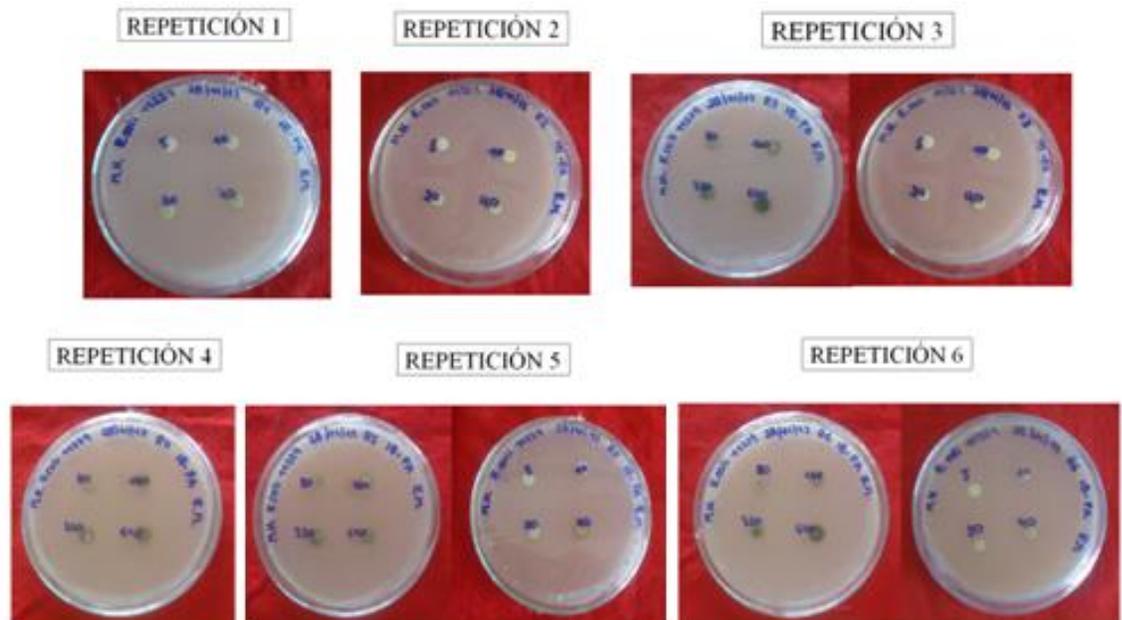
Tabla 33 Diámetro de los halos obtenidos en mm de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) para *Escherichia coli* ATCC 11229

	Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)							Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6		R1	R2	R3	R4	R5	R6
640 ppm	6,0	6,0	7,0	-	6,0	-	5 %	9,6	8,9	-	9,2	9,0	-
320 ppm	6,0	-	6,6	6,5	-	6,0	2 %	8,2	8,8	-	8,9	8,4	-
160 ppm	-	6,0	8,1	-	6,9	6,7	1 %	8,6	8,2	-	8,3	8,3	-
80 ppm	6,0	-	7,7	-	6,7	6,7	0,5 %	8,5	8,2	-	8,2	8,2	-
40 ppm	7,7	7,9	9,6	-	7,7	8,3	0,2 %	8,5	8,1	8,2	-	-	8,3
20 ppm	7,6	8,0	8,9	-	7,3	7,6	0,1 %	7,2	7,7	6,8	-	-	7,0
10 ppm	7,4	8,1	8,2	-	7,4	7,9	0,05 %	7,0	7,5	6,7	-	-	6,8
5 ppm	7,1	8,4	8,0	-	7,2	7,1	0,02 %	6,0	6,0	6,0	-	6,0	6,0

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

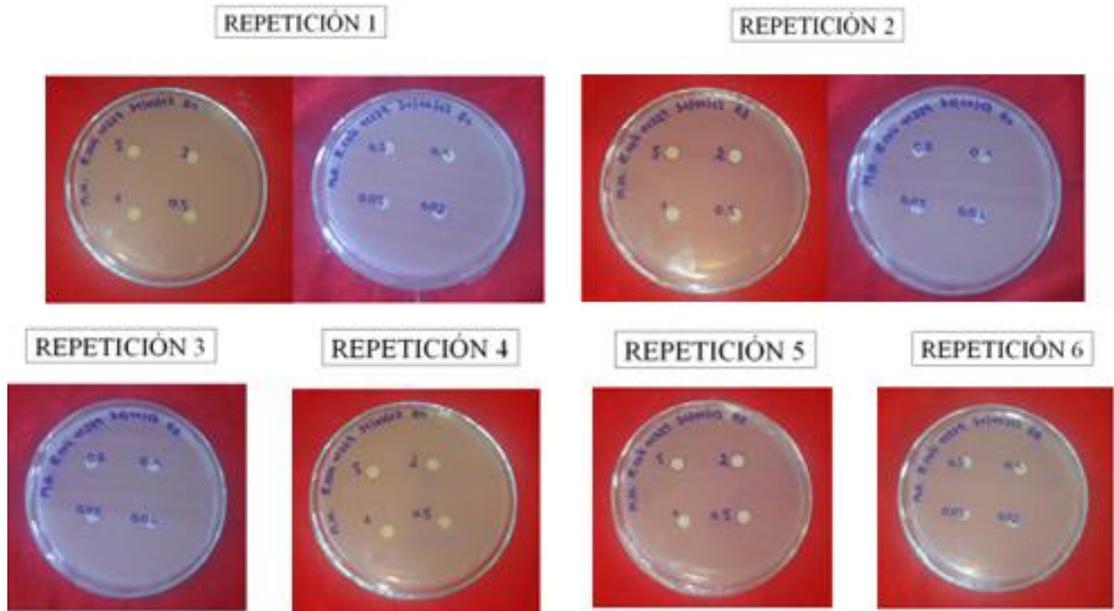
Nota: el signo – representa que son datos descartables ya que según la técnica se necesitan 4 repeticiones mínimas con halos medibles.

Figura 16 Halos obtenidos de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) para *Escherichia coli* ATCC 11229



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 17 Halos obtenidos de las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) para *Escherichia coli* ATCC 11229



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.7.1.1. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) en *Escherichia coli* ATCC 11229

Tabla 34 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente a *Escherichia coli* ATCC 11229

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Ec10ppm	26.2	5
Ec160ppm	21.8	5
Ec20ppm	28.8	5
Ec320ppm	7.9	5
Ec40ppm	32.4	5
Ec5ppm	25.7	5
Ec640ppm	7.8	5
Ec80ppm	13.4	5
Total	20.5	40
Kruskal-Wallis Statistic		23.9070
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0012

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	7	3210.90	458.700	7.24	0.0000
Within	32	2027.10	63.347		
Total	39	5238.00			

Total number of values that were tied 28
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 40 Missing Cases 8

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Se halló un valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) de 23.9070 y un valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) de 0.0012.

Debido a que el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es menor al alfa escogido, 0.05; se acepta la hipótesis alternativa, por lo que se concluye que al menos una de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) tiene medianas diferentes.

Para determinar cuál de las concentraciones causa la diferencia de los halos, se

realizó una prueba *a posteriori* en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de concentraciones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 35.

Tabla 35 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente a *Escherichia coli* ATCC 11229

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Ec40ppm	32.400	A
Ec20ppm	28.800	AB
Ec10ppm	26.200	AB
Ec5ppm	25.700	AB
Ec160ppm	21.800	AB
Ec80ppm	13.400	AB
Ec320ppm	7.9000	B
Ec640ppm	7.8000	B
Alpha		0.05
Critical Z Value	3.124	Critical Value for Comparison 23.096

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Ec640ppm: concentración de extracto a 640 ppm; **Ec320ppm:** concentración de extracto a 320 ppm; **Ec160ppm:** concentración de extracto a 160 ppm **Ec80ppm:** concentración de extracto a 80 ppm; **Ec40ppm:** concentración de extracto a 40 ppm **Ec20ppm:** concentración de extracto a 20 ppm; **Ec10ppm:** concentración de extracto a 10 ppm; **Ec5ppm:** concentración de extracto a 5 ppm.

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

De acuerdo a los resultados de la tabla 35, hay dos grupos de concentraciones estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 160 ppm y 80 ppm y grupo B: 20 ppm, 10 ppm, 5 ppm, 160 ppm, 80 ppm, 320 ppm y 640 ppm.

La concentración que sobresale de los dos grupos que se formaron, en la que se observa un rango más grande es la de 40 ppm (32.400). Por lo que se puede asumir que presenta los mejores halos de inhibición.

4.7.1.2. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en *Escherichia coli* ATCC 11229

Tabla 36 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) frente a *Escherichia coli* ATCC 11229

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Ec002	3.5	6
Ec005	9.8	4
Ec01	11.3	4
Ec02	20.8	4
Ec05	20.5	4
Ec1	23.1	4
Ec2	25.8	4
Ec5	32.4	4
Total	17.5	34
Kruskal-Wallis Statistic		29.9498
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0001

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	7	2934.63	419.232	36.5	0.0000
Within	26	298.88	11.495		
Total	33	3233.50			

Total number of values that were tied 23
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 34 Missing Cases 14

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

El valor estadístico de Kruskal-Wallis (H) es de 29.9498 y el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es de 0.0001. Como el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es menor al alfa escogido, 0.05, se acepta la hipótesis alternativa, con lo que se concluye que al menos uno de los diámetros de halo de inhibición de las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) tiene medianas diferentes.

Para determinar cual de los halos de inhibición es diferente, se realizó una prueba *a*

posteriori en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de concentraciones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 37.

Tabla 37 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) frente a *Escherichia coli* ATCC 11229

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Ec5	32.375	A
Ec2	25.750	AB
Ec1	23.125	ABC
Ec02	20.750	ABC
Ec05	20.500	ABC
Ec01	11.250	ABC
Ec005	9.7500	BC
Ec002	3.5000	C
Alpha		0.05
Critical Z Value		3.124

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Ec5: concentración de aceite esencial al 5 %; **Ec2:** concentración de aceite esencial al 2 %; **Ec1:** concentración de aceite esencial al 1 %; **Ec05:** concentración de aceite esencial al 0,5 %; **Ec02:** concentración de aceite esencial al 0,2 %; **Ec01:** concentración de aceite esencial al 0,1 %; **Ec005:** concentración de aceite esencial al 0,05 %; **Ec002:** concentración de aceite esencial al 0,02 %.

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

En la tabla 37 se observa que hay tres grupos de estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: 5 %, 2 %, 1 %, 0,2 %, 0,5 % y 0,1 %; grupo B: 2 %, 1 %, 0,2 %, 0,5 %, 0,1 % y 0,05 % y grupo C: 1 %, 0,2 %, 0,5 %, 0,1 %, 0,05 % y 0,02 %. Con lo que se comprueba que la concentración de 5 % presenta el rango de medianas más alto (32.375), por lo que claramente se diferencia de los demás, y en consecuencia se la considera la concentración con los mejores resultados inhibitorios.

4.7.2. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Tabla 38 Diámetro de los halos obtenidos en mm del blanco positivo y blanco negativo de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429 para el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

	Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)			Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Blanco positivo (500 µg de gentamicina)	19,3	17,0	15,2	21,5	18,3	18,9
Blanco negativo (10 µL de DMSO)	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

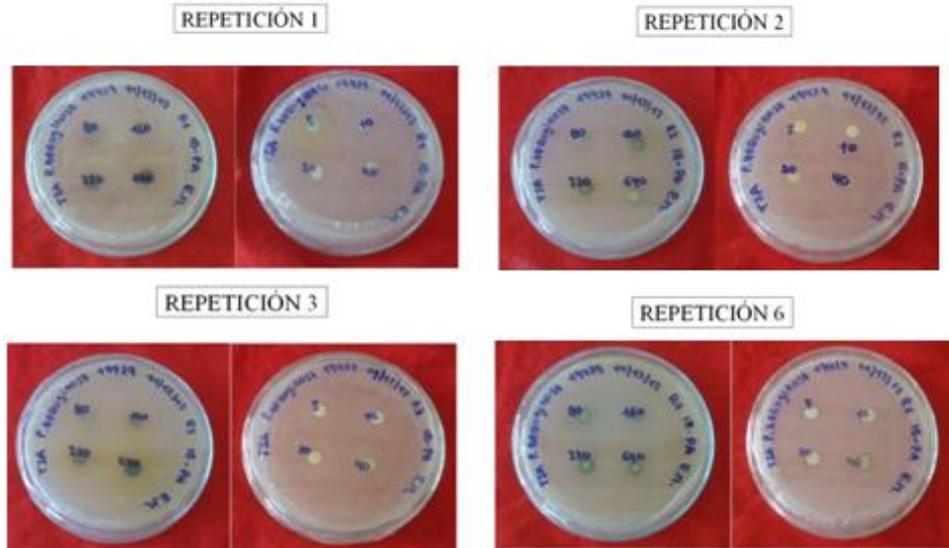
Tabla 39 Diámetro de los halos obtenidos en mm de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

	Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)							Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)					
	R1	R2	R3	R4	R5	R6		R1	R2	R3	R4	R5	R6
640 ppm	8,0	7,9	8,0	-	-	7,8	5 %	8,5	8,3	9,4	9,3	9,0	8,9
320 ppm	7,9	7,8	7,9	-	-	7,7	2 %	7,6	8,1	9,0	9,0	8,3	8,3
160 ppm	7,8	7,7	7,9	-	-	7,6	1 %	8,3	7,9	8,6	8,5	8,0	8,3
80 ppm	6,7	6,8	6,8	-	-	6,7	0,5 %	7,3	7,7	8,0	7,6	7,7	8,1
40 ppm	6,6	6,5	6,7	-	6,6	6,6	0,2 %	7,1	7,4	7,6	7,3	-	7,4
20 ppm	6,4	6,3	6,5	-	6,4	6,5	0,1 %	7,6	7,0	6,8	7,3	-	7,0
10 ppm	6,2	6,1	6,4	-	-	6,3	0,05 %	6,9	7,0	6,9	6,6	-	7,5
5 ppm	6,0	6,0	6,0	-	-	6,0	0,02 %	6,9	6,7	6,6	6,4	-	7,2

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

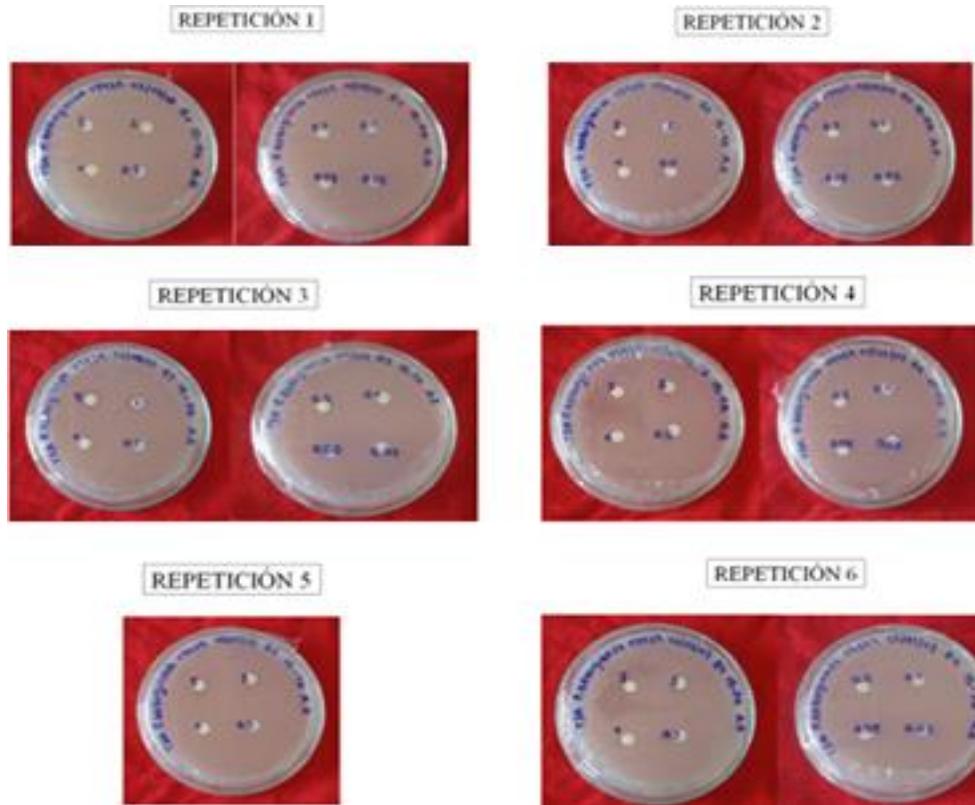
Nota: el signo – representa que son datos descartables ya que según la técnica se necesitan 4 repeticiones mínimas con halos medibles.

Figura 18 Halos obtenidos de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 19 Halos obtenidos de las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.7.2.1. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill) en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Tabla 40 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Pa10ppm	8.1	4
Pa160ppm	27.3	4
Pa20ppm	11.7	5
Pa320ppm	29.1	4
Pa40ppm	17.0	5
Pa5ppm	3.0	5
Pa640ppm	32.1	4
Pa80ppm	21.3	4
Total	18.0	35
Kruskal-Wallis Statistic		32.5907
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0000

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	7	3396.14	485.162	89.2	0.0000
Within	27	146.86	5.439		
Total	34	3543.00			

Total number of values that were tied 32
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 35 Missing Cases 13

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Se halló un valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) de 32.5907 y un valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) de 0.0000. Como el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es menor al alfa escogido, 0.05; se acepta la hipótesis alternativa, por lo que se concluye que el valor de al menos una de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) está generando medianas de halos de inhibición diferentes que las otras concentraciones.

Para determinar cuál de los halos de inhibición es diferente, se realizó una prueba *a*

posteriori en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de concentraciones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 41.

Tabla 41 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
-----------------	-------------	---------------------------

Pa640ppm	32.125	A
Pa320ppm	29.125	AB
Pa160ppm	27.250	AB
Pa80ppm	21.250	ABC
Pa40ppm	17.000	ABC
Pa20ppm	11.700	ABC
Pa10ppm	8.1250	BC
Pa5ppm	3.0000	C
Alpha		0.05
Critical Z Value	3.124	

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Pa640ppm: concentración de extracto a 640 ppm; **Pa320ppm:** concentración de extracto a 320 ppm; **Pa160ppm:** concentración de extracto a 160 ppm **Pa80ppm:** concentración de extracto a 80 ppm; **Pa40ppm:** concentración de extracto a 40 ppm **Pa20ppm:** concentración de extracto a 20 ppm; **Pa10ppm:** concentración de extracto a 10 ppm; **Pa5ppm:** concentración de extracto a 5 ppm.

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

De acuerdo a los resultados de la tabla 41, hay tres grupos de concentraciones estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: 640 ppm, 320 ppm, 160 ppm, 80 ppm, 40 ppm y 20 ppm; grupo B: 320 ppm, 160 ppm, 80 ppm, 40 ppm, 20 ppm y 10 ppm y grupo C: 80 ppm, 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm y 5 ppm.

La concentración que sobresale de los tres grupos que se formaron, es decir, en la que se observa un mayor rango, es la de 640 ppm y por lo que se puede decir que presenta una mejor actividad antimicrobiana.

4.7.2.2. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Tabla 42 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Pa002	6.7	5
Pa005	8.5	5
Pa01	13.6	5
Pa02	18.4	5
Pa05	20.7	6
Pa1	32.3	6
Pa2	33.3	6
Pa5	39.4	6
Total	22.5	44
Kruskal-Wallis Statistic		34.7884
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0000

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	7	5719.05	817.007	21.8	0.0000
Within	36	1349.95	37.499		
Total	43	7069.00			

Total number of values that were tied 33
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 44 Missing Cases 4

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

El valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) es de 34.7884 y el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es de 0.0000. Debido a que el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es menor al alfa escogido, 0.05; se acepta la hipótesis alternativa, concluyendo que al menos una de las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es diferente a las otras.

Para determinar cuál de las concentraciones es diferente, se realizó una prueba *a posteriori* en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de

concentraciones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 43.

Tabla 43 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Pa5	39.417	A
Pa2	33.250	AB
Pa1	32.333	ABC
Pa05	20.667	ABCD
Pa02	18.400	ABCD
Pa01	13.600	BCD
Pa005	8.5000	CD
Pa002	6.7000	D
Alpha		0.05
Critical Z Value	3.124	

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Pa5: concentración de aceite esencial al 5 %; **Pa2:** concentración de aceite esencial al 2 %; **Pa1:** concentración de aceite esencial al 1 %; **Pa05:** concentración de aceite esencial al 0,5 %; **Pa02:** concentración de aceite esencial al 0,2 %; **Pa01:** concentración de aceite esencial al 0,1 %; **Pa005:** concentración de aceite esencial al 0,05 %; **Pa002:** concentración de aceite esencial al 0,02 %.

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

De acuerdo a los resultados de la tabla 43, hay cuatro grupos de concentraciones estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: 5 %, 2 %, 1 %, 0,5 % y 0,2 %; grupo B: 2 %, 1 %, 0,5 %, 0,2 % y 0,1 %; grupo C: 1 %, 0,5 %, 0,2 %, 0,1 % y 0,05 % y grupo D: 0,5 %, 0,2 %, 0,1 %, 0,05 % y 0,02 %.

Se observa claramente que la concentración de 5 % es diferente debido a que tiene un rango de 39.417, siendo muy superior a los demás rangos de las otras concentraciones.

4.7.3. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Tabla 44 Diámetro de los halos obtenidos en mm del blanco positivo y blanco negativo de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 para el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

	Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)			Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Blanco positivo (500 µg de gentamicina)	31,2	34,1	32,1	27,5	27,1	27,7
Blanco negativo (10 µL de DMSO)	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

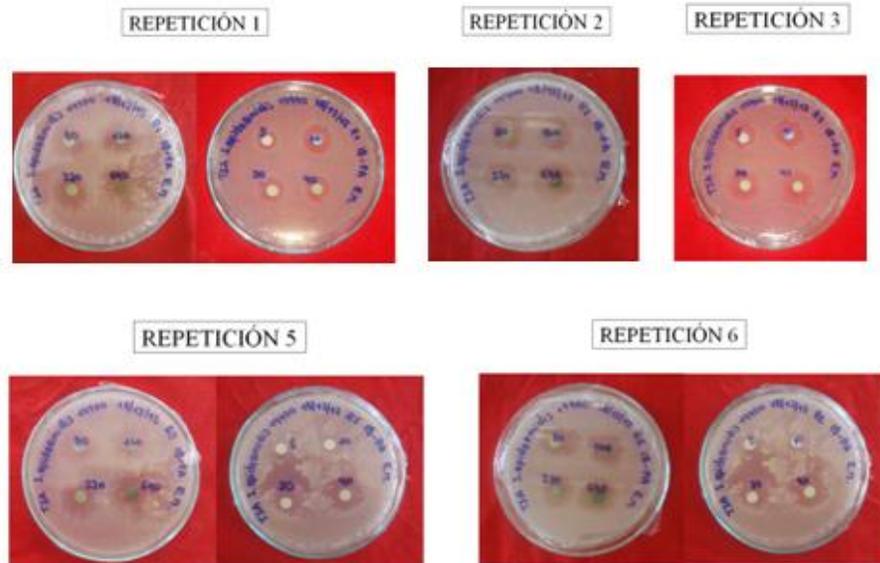
Tabla 45 Diámetro de los halos obtenidos en mm de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) para *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

	Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)						Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)						
	R1	R2	R3	R4	R5	R6		R1	R2	R3	R4	R5	R6
640 ppm	21,4	22,4	-	-	18,9	19,3	5%	8.5	9.0	-	8.0	10.0	9.5
320 ppm	19,4	19,5	-	-	18,6	18,9	2%	6.7	7.8	-	9.0	9.6	9.0
160 ppm	18,8	19,5	-	-	18,1	18,6	1%	6.5	7.5	-	7.8	7.5	8.0
80 ppm	18,7	19,0	-	-	16,1	16,2	0,5%	7.0	7.3	-	7.7	7.4	7.1
40 ppm	15,7	-	17,7	-	14,2	16,1	0,2%	7.2	7.1	7.1	-	6.5	7.7
20 ppm	14,7	-	16,9	-	11,5	15,3	0,1%	6.3	7.0	6.6	-	6.3	7.0
10 ppm	16,9	-	16,5	-	11,2	13,2	0,05%	6.2	6.9	6.3	-	6.3	6.9
5 ppm	11,9	-	13,5	-	9,0	12,8	0,02%	6.2	6.9	6.2	-	6.1	6.9

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

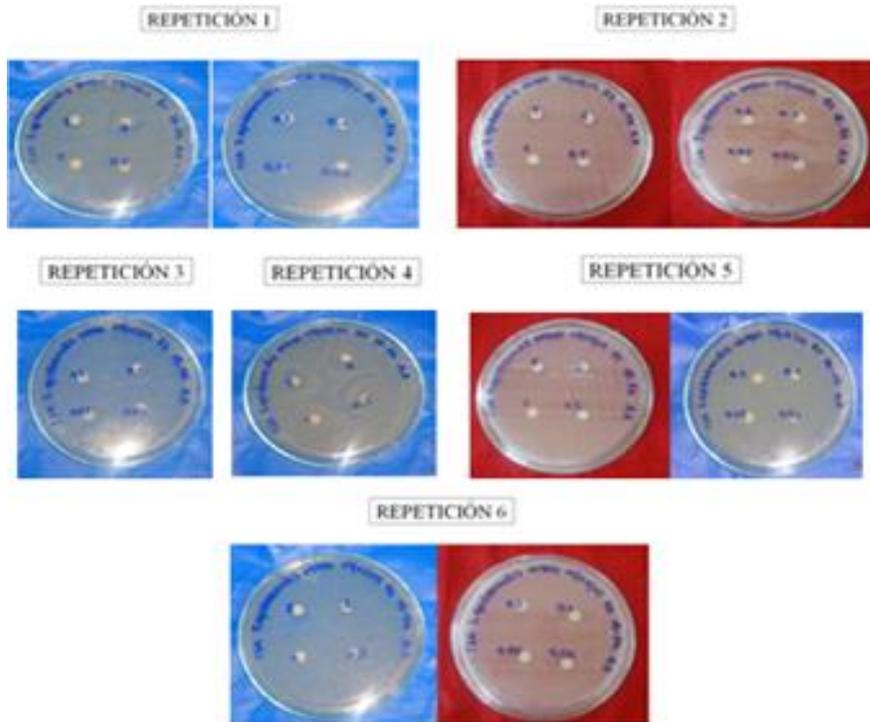
Nota: el signo – representa que son datos descartables ya que según la técnica se necesitan 4 repeticiones mínimas con halos medibles.

Figura 20 Halos obtenidos de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) para *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 21 Halos obtenidos de las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) para *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.7.3.1. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) en *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Tabla 46 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV		
Variable	Mean Rank	Sample Size
Se10ppm	9.9	4
Se160ppm	23.0	4
Se20ppm	9.6	4
Se320ppm	25.6	4
Se40ppm	12.4	4
Se5ppm	4.3	4
Se640ppm	28.6	4
Se80ppm	18.6	4
Total	16.5	32
Kruskal-Wallis Statistic		24.3533
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0010

Parametric AOV Applied to Ranks					
Source	DF	SS	MS	F	P
Between	7	2141.13	305.875	12.6	0.0000
Within	24	584.38	24.349		
Total	31	2725.50			

Total number of values that were tied 10
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 32 Missing Cases 16

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

El valor del estadístico encontrado de Kruskal-Wallis (H) es de 24.3533, y el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es de 0.0010. Como se observa, el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es menor al alfa escogido, 0.05; aceptando la hipótesis alternativa, por lo que se concluye que al menos una de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) tiene halos de inhibición diferentes.

Para comprobar cuál de las concentraciones marca esa diferencia, se realizó una prueba *a posteriori* en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de concentraciones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 47.

Tabla 47 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Se640ppm	28.625	A
Se320ppm	25.625	A
Se160ppm	23.000	AB
Se80ppm	18.625	AB
Se40ppm	12.375	AB
Se10ppm	9.8750	AB
Se20ppm	9.6250	AB
Se5ppm	4.2500	B
Alpha		0.05
Critical Z Value	3.124	Critical Value for Comparison
	20.721	

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Se640ppm: concentración de extracto a 640 ppm; **Se320ppm:** concentración de extracto a 320 ppm; **Se160ppm:** concentración de extracto a 160 ppm **Se80ppm:** concentración de extracto a 80 ppm; **Se40ppm:** concentración de extracto a 40 ppm **Se20ppm:** concentración de extracto a 20 ppm; **Se10ppm:** concentración de extracto a 10 ppm; **Se5ppm:** concentración de extracto a 5 ppm.

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

De acuerdo a los resultados de la tabla 47, hay dos grupos de concentraciones estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: 640 ppm, 320 ppm, 160 ppm, 80 ppm, 40 ppm y 20 ppm y grupo B: 160 ppm, 80 ppm, 40 ppm, 20 ppm, 10 ppm y 5 ppm.

Existen dos concentraciones que sobresalen de los dos grupos que se formaron, es decir, en las que se observa claramente que tiene rangos muy superiores; estas concentraciones son de 640 ppm con rango de 28.625 y de 320 ppm con un rango de 25.625. Por lo que se puede decir que son las concentraciones con mejor actividad antimicrobiana.

4.7.3.2. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Tabla 48 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Se002	7.2	5
Se005	9.0	5
Se01	12.0	5
Se02	20.6	5
Se05	23.3	5
Se1	25.1	5
Se2	30.7	5
Se5	36.1	5
Total	20.5	40
Kruskal-Wallis Statistic		27.8314
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0002

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	7	3789.00	541.286	11.4	0.0000
Within	32	1520.50	47.516		
Total	39	5309.50			

Total number of values that were tied 30
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 40 Missing Cases 8

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

El valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) encontrado es de 27.8314, y el de la probabilidad asociada al estadístico (P), es de 0.0002; por tal razón, comparando con el valor del alfa escogido, de 0.05; se acepta la hipótesis alternativa, es decir que al menos una de las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) posee halos con medianas diferentes.

Para determinar cuál de las concentraciones está generando tal diferencia, se realizó una prueba *a posteriori* en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de concentraciones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 49.

Tabla 49 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Se5	36.100	A
Se2	30.700	AB
Se1	25.100	ABC
Se05	23.300	ABC
Se02	20.600	ABC
Se01	12.000	BC
Se005	9.0000	BC
Se002	7.2000	C
Alpha		0.05
Critical Z Value	3.124	Critical Value for Comparison 23.096

There are 3 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Se5: concentración de aceite esencial al 5 %; **Se2:** concentración de aceite esencial al 2 %; **Se1:** concentración de aceite esencial al 1 %; **Se05:** concentración de aceite esencial al 0,5 %; **Se02:** concentración de aceite esencial al 0,2 %; **Se01:** concentración de aceite esencial al 0,1 %; **Se005:** concentración de aceite esencial al 0,05 %; **Se002:** concentración de aceite esencial al 0,02 %.

En la tabla 49 se observan tres grupos de concentraciones estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: 5 %, 2 %, 1 %, 0,5 % y 0,2 %; grupo B: 2 %, 1 %, 0,5 %, 0,2 %, 0,1 % y 0,05 % y grupo C: 1 %, 0,5 %, 0,2 %, 0,1 %, 0,05 % y 0,02 %.

Se observa claramente que existe una concentración que sobresale de los tres grupos que se formaron, la concentración de 5 %, debido a que tiene un rango claramente alto de 36.1000, por lo que se puede decir que es la de mejor eficacia antimicrobiana.

4.7.4. Estudio de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Tabla 50 Diámetro de los halos obtenidos en mm del blanco positivo y blanco negativo de *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 para el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)

	Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)			Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium</i> <i>ambrosioides</i> L.)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Blanco positivo (500 µg de gentamicina)	17,9	22,2	18,8	27,5	27,1	27,7
Blanco negativo (10 µL de DMSO)	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

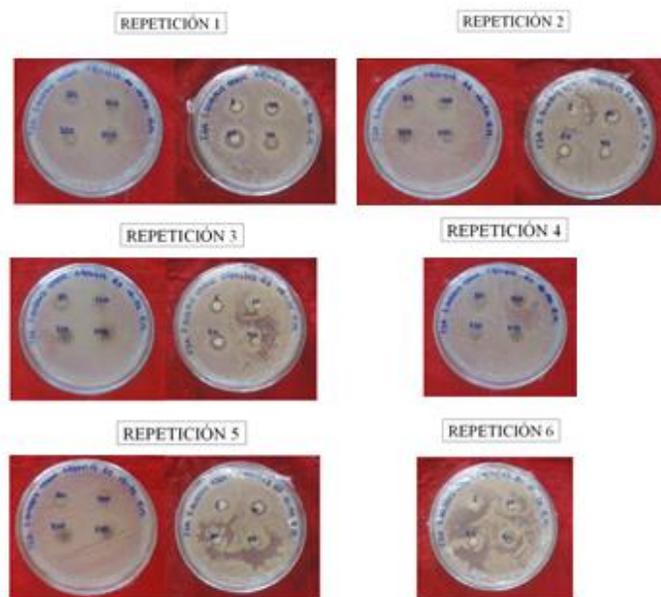
Tabla 51 Diámetro de los halos obtenidos en mm de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) para *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Extracto blando de marco (<i>Ambrosia arborescens</i> Mill.)							Aceite esencial de paico (<i>Chenopodium ambrosioides</i> L.)						
	R1	R2	R3	R4	R5	R6		R1	R2	R3	R4	R5	R6
640 ppm	6,3	6,3	7,2	6,7	6,5	-	5%	7,9	9,2	9,0	-	8,4	9,1
320 ppm	6,9	6,9	7,3	6,7	8,3	-	2%	8,5	9,0	8,5	-	7,8	8,2
160 ppm	7,2	6,9	7,4	7,8	7,7	-	1%	7,1	7,6	7,2	-	7,1	7,4
80 ppm	8,1	7,9	8,1	8,0	7,3	-	0,5%	6,8	7,6	7,0	-	6,9	6,6
40 ppm	7,9	7,1	6,8	-	6,5	7,2	0,2%	-	7,1	6,5	-	7,6	7,9
20 ppm	11,8	8,2	8,2	-	8,0	7,3	0,1%	6,0	6,9	6,5	-	6,9	8,4
10 ppm	8,7	8,3	6,0	-	8,1	7,3	0,05%	-	8,8	8,1	-	8,6	8,5
5 ppm	7,1	6,4	7,0	-	6,9	6,7	0,02%	-	6,8	6,9	-	6,7	6,8

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

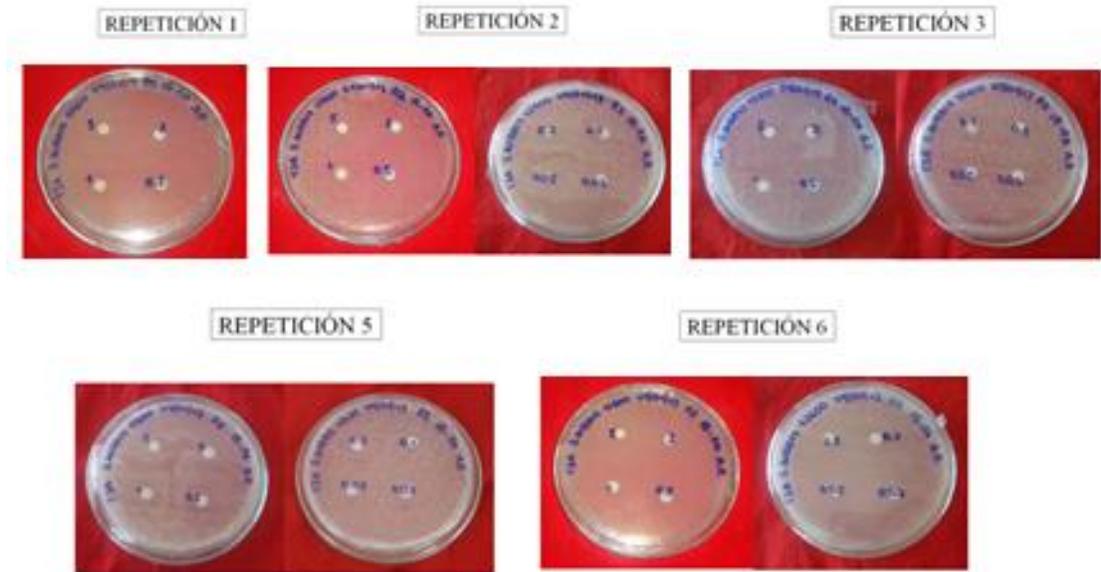
Nota: el signo – representa que son datos descartables ya que según la técnica se necesitan 4 repeticiones mínimas con halos medibles.

Figura 22 Halos obtenidos de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) para *Staphylococcus aureus* ATCC 12600



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes, 2013.

Figura 23 Halos obtenidos de las concentraciones de *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 para el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.)



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.7.4.1. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) en *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Tabla 52 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Sa10ppm	26.6	5
Sa160ppm	21.9	5
Sa20ppm	32.8	5
Sa320ppm	18.6	5
Sa40ppm	15.9	5
Sa5ppm	11.2	5
Sa640ppm	7.5	5
Sa80ppm	29.5	5
Total	20.5	40
Kruskal-Wallis Statistic		20.2590
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0050

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	7	2758.60	394.086	4.94	0.0007
Within	32	2551.90	79.747		
Total	39	5310.50			

Total number of values that were tied 31
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 40 Missing Cases 8

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Se halló un valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) de 20.2590 y un valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) de 0.0050. Debido a que el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es menor al alfa escogido, 0.05; se acepta la hipótesis alternativa, por lo que se concluye que el valor de los halos de inhibición de alguna de las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) es diferente.

Para determinar cuál de las concentraciones está generando esa diferencia, se realizó una prueba *a posteriori* en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de concentraciones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 53.

Tabla 53 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Sa20ppm	32.800	A
Sa80ppm	29.500	AB
Sa10ppm	26.600	AB
Sa160ppm	21.900	AB
Sa320ppm	18.600	AB
Sa40ppm	15.900	AB
Sa5ppm	11.200	AB
Sa640ppm	7.5000	B
Alpha		0.05
Critical Z Value	3.124	Critical Value for Comparison
	23.096	

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Sa640ppm: concentración de extracto a 640 ppm; **Sa320ppm:** concentración de extracto a 320 ppm; **Sa160ppm:** concentración de extracto a 160 ppm **Sa80ppm:** concentración de extracto a 80 ppm; **Sa40ppm:** concentración de extracto a 40 ppm **Sa20ppm:** concentración de extracto a 20 ppm; **Sa10ppm:** concentración de extracto a 10 ppm; **Sa5ppm:** concentración de extracto a 5 ppm.

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Según los resultados de la tabla 53, hay dos grupos de concentraciones estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: 20 ppm, 80 ppm, 10 ppm, 160 ppm, 320 ppm, 40 ppm y 5 ppm y grupo B: 80 ppm, 10 ppm, 160 ppm, 320 ppm, 40 ppm, 5 ppm y 640 ppm.

La concentración que sobresale de los dos grupos que se formaron, con un rango mas alto fue la concentración de 20 ppm, por lo que se puede decir que frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 es la concentración con mejor eficacia antibacteriana.

4.7.4.2. Test Kruskal-Wallis para el antibiograma del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) en *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Tabla 54 Test Kruskal-Wallis para las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Sa002	6.4	4
Sa005	29.0	4
Sa01	11.8	4
Sa02	14.3	4
Sa05	9.9	5
Sa1	16.0	5
Sa2	27.5	5
Sa5	30.7	5
Total	18.5	36
Kruskal-Wallis Statistic		25.6288
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0006

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	7	2833.81	404.830	10.9	0.0000
Within	28	1036.19	37.007		
Total	35	3870.00			

Total number of values that were tied 24
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 36 Missing Cases 12

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Se halló un valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) de 25.6288 y un valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) de 0.0006. Se evidencia que el valor P es

menor al alfa escogido, de 0.05, por lo que se acepta la hipótesis alternativa, concluyendo que el valor de las medianas de los halos de inhibición de al menos una de las concentraciones de aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) es diferente.

Para establecer si hay una o varias concentraciones diferentes a las demás, se realizó una prueba *a posteriori* en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de concentraciones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 55.

Tabla 55 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para las concentraciones del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Sa5	30.700	A
Sa005	29.000	AB
Sa2	27.500	AB
Sa1	16.000	AB
Sa02	14.250	AB
Sa01	11.750	AB
Sa05	9.9000	AB
Sa002	6.3750	B
Alpha		0.05
Critical Z Value		3.124

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Sa5: concentración de aceite esencial al 5 %; **Sa2:** concentración de aceite esencial al 2 %; **Sa1:** concentración de aceite esencial al 1 %; **Sa05:** concentración de aceite esencial al 0,5 %; **Sa02:** concentración de aceite esencial al 0,2 %; **Sa01:** concentración de aceite esencial al 0,1 %; **Sa005:** concentración de aceite esencial al 0,05 %; **Sa002:** concentración de aceite esencial al 0,02 %.

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

De acuerdo a los resultados de la tabla 55, hay dos grupos de concentraciones estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: 5 %, 0,05 %, 2 %, 1 %, 0,2 %, 0,1 % y 0,5 % y grupo B: 0,05 %, 2 %, 1 %, 0,2 %, 0,1 %, 0,5 % y 0,02 %.

La concentración que sobresale de los dos grupos que se formaron, es la de 5 % debido a que tiene un rango de 30.7000 superior a los demás. Con lo que se puede decir que tiene una mejor eficacia antibacteriana

4.8. Elaboración del jabón líquido antibacteriano

Para saber el porcentaje de aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y las partes por millón de extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) que se deben utilizar en la formulación del jabón líquido antibacteriano, se tomó en cuenta los mejores resultados del test *a posteriori* que se realizaron para cada bacteria. De esta manera se elaboraron tres jabones líquidos antibacterianos.

En el caso del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), las mejores concentraciones son: 640 ppm, 320 ppm, 40 ppm y 20 ppm.

Para el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), las mejores concentraciones son: 5 % y 2 %.

Para la formulación 1, se utilizó 5 % de aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y 40 ppm de extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.).

Para la formulación 2, se utilizó 2 % de aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y 320 ppm de extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.).

Para la formulación 3, se utilizó 2 % de aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y 640 ppm de extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.).

4.9. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano por medio de difusión en disco o antibiograma

Se realizó el estudio de la actividad antibacteriana de las tres formulaciones elaboradas y de tres jabones comerciales con las mismas bacterias que se utilizaron para realizar el antibiograma del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.).

La lectura de los resultados está en función de la interpretación de los halos obtenidos y del análisis estadístico. Se compararon los resultados de las tres formulaciones elaboradas versus los resultados de los tres jabones comerciales.

4.9.1. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de tres marcas comerciales en *Escherichia coli* ATCC 11229

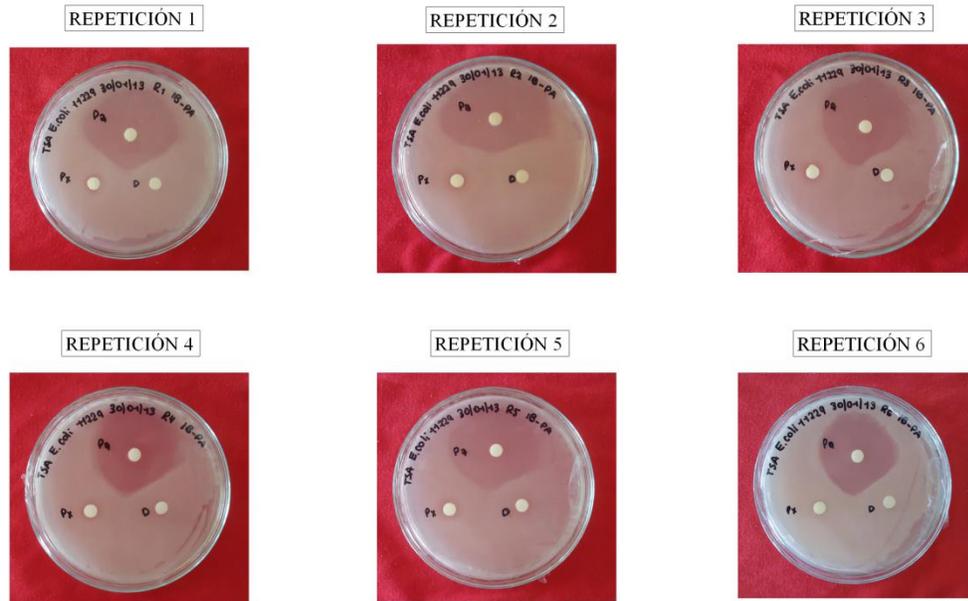
Tabla 56 Diámetro de los halos obtenidos en mm de los seis jabones líquidos antibacterianos para *Escherichia coli* ATCC 11229

	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Marca 1	7,1	7,0	8,4	7,7	7,8	6,0
Marca 2	36,3	37,8	36,2	37,1	35,7	36,2
Marca 3	6,0	6,3	6,8	6,4	6,7	6,0
Fórmula 1	6,0	6,0	6,0	7,0	6,3	7,2
Fórmula 2	8,1	6,0	6,0	7,2	6,7	7,8
Fórmula 3	6,0	6,0	6,5	9,8	6,0	6,0

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

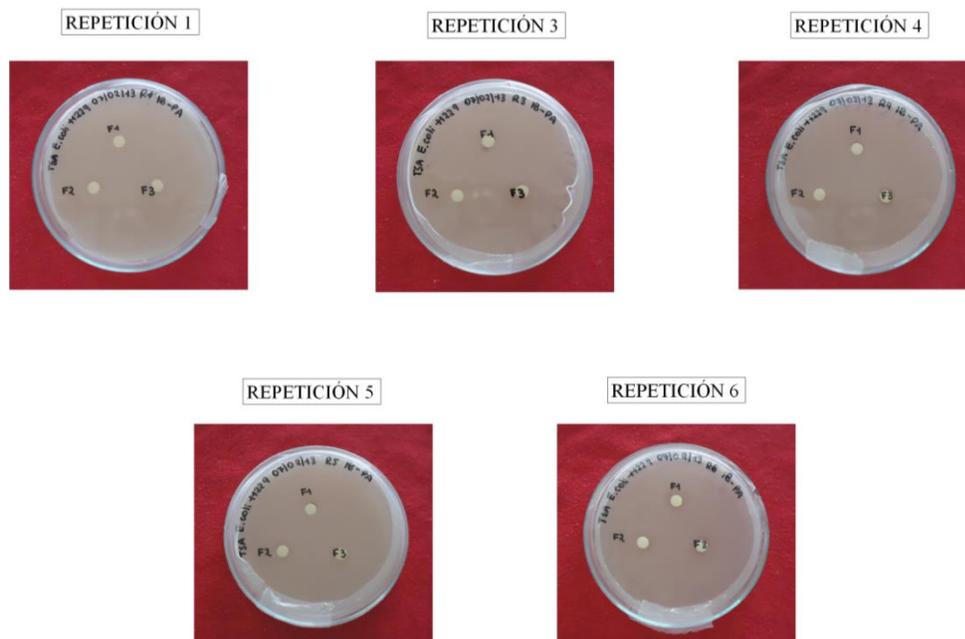
Los resultados serán discutidos después de las tablas 57 y 58.

Figura 24 Halos obtenidos de las tres marcas comerciales de jabones líquidos antibacterianos frente a *Escherichia coli* ATCC 11229



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 25 Halos obtenidos de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a *Escherichia coli* ATCC 11229



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.9.1.1. Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Escherichia coli* ATCC 11229

Tabla 57 Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Escherichia coli* ATCC 11229

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Marca3Eco	10.5	6
F1Ecoli	11.7	5
F2Ecoli	17.7	5
F3Ecoli	11.0	5
Marca2Eco	30.5	6
Marca1Eco	18.8	6
Total	17.0	33
Kruskal-Wallis Statistic		18.4644
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0024

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	5	1690.07	338.013	7.37	0.0002
Within	27	1238.93	45.886		
Total	32	2929.00			

Total number of values that were tied 21
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 33 Missing Cases 3

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

El valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) que se encontró fue de 18.4644, y el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) fue de 0.0024. El valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) es menor al alfa escogido (0.05); por tal razón, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que al menos uno de los jabones líquidos antibacterianos está generando un halo de inhibición diferente a los demás.

Para determinar el jabón líquido antibacteriano que está generando halos de inhibición diferentes, se realizó una prueba *a posteriori* en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de jabones (Kruskal-Wallis All-Pairwise

Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 58.

Tabla 58 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Escherichia coli* ATCC 11229

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Marca2Eco	30.500	A
Marca1Eco	18.833	AB
F2Ecoli	17.700	AB
F1Ecoli	11.700	B
F3Ecoli	11.000	B
Marca3Eco	10.500	B
Alpha		0.05
Critical Z Value	2.935	

There are 2 groups (A and B) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Marca3Eco: Marca 3 de jabón; **Marca2Eco:** Marca 2 de jabón; **Marca1Eco:** Marca 1 de jabón; **F1Ecoli:** formulación 1; **F2Ecoli:** formulación 2; **F3Ecoli:** formulación 3.

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

En la tabla 58 se distinguen dos grupos de jabones líquidos antibacterianos estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: marca 2 y marca 1 y formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado y grupo B: marca 1, formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado, formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado, formulación 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado y marca 3.

Comparando por grupos, se observa que el jabón con el mayor rango es la marca 2 con un rango de 30.500, considerándose el de mayor efectividad antibacteriana; siendo este el referente para las formulaciones. Dentro de las formulaciones elaboradas la que mejor desempeño tuvo fue la formulación 2 con un rango de 17.700, por lo tanto se la puede considerar la más efectiva de las 3 formulaciones ya que también hace un grupo con el Marca 2 y Marca 1.

4.9.2. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de tres marcas comerciales en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Tabla 59 Diámetro de los halos obtenidos en mm de los seis jabones líquidos antibacterianos para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

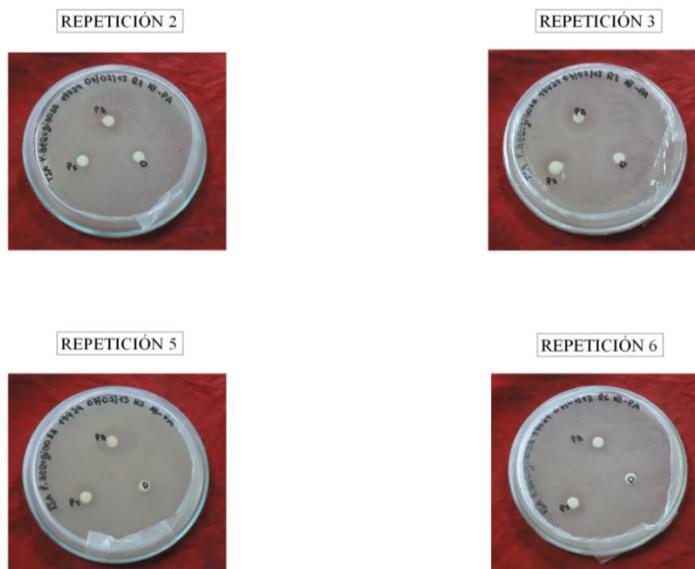
	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Marca 1	-	8,6	8,4	9,7	6,0	11,5
Marca 2	-	10,4	7,7	12,9	6,0	10,9
Marca 3	-	6,8	6,7	6,9	6,0	6,8
Formula 1	10,1	8,1	-	8,1	8,3	-
Formula 2	8,3	7,3	-	8,7	8,0	-
Formula 3	8,0	7,0	-	8,4	8,1	-

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: el signo – representa que son datos descartables ya que según la técnica se necesitan 4 repeticiones mínimas con halos medibles.

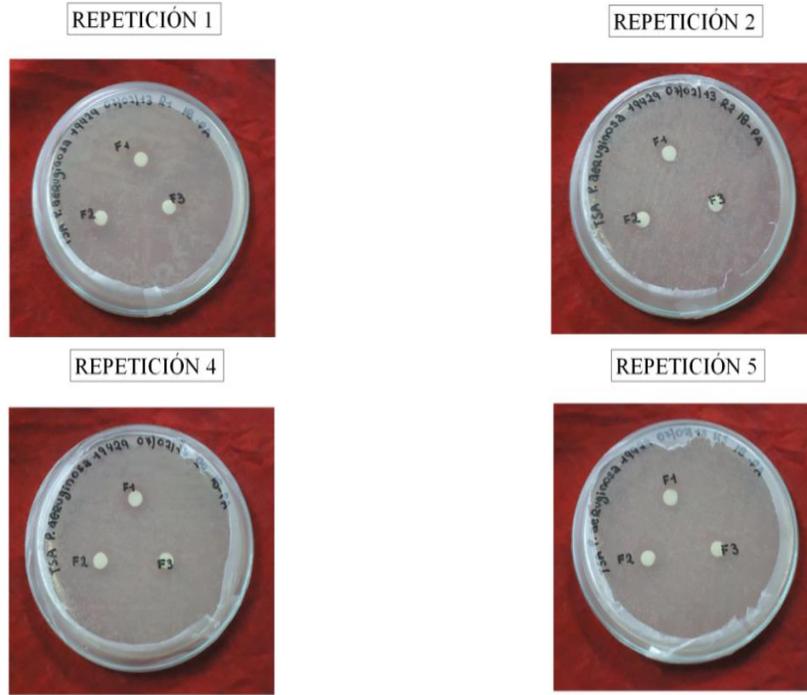
Los resultados serán discutidos después de la tabla 60.

Figura 26 Halos obtenidos de las tres marcas comerciales de jabones líquidos antibacterianos frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 27 Halos obtenidos de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.9.2.1. Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Tabla 60 Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Marca3Pae	4.3	4
F1Paerugi	15.9	4
F2Paerugi	13.5	4
F3Paerugi	12.0	4
Marca2Pae	16.8	5
Marca1Pae	16.9	5
Total	13.5	26
Kruskal-Wallis Statistic		8.3430
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.1383

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	5	486.06	97.2125	2.00	0.1220
Within	20	970.44	48.5219		
Total	25	1456.50			

Total number of values that were tied 14
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 26 Missing Cases 10

Donde:

Marca3Pae: Marca 3 de jabón; **Marca2Pae:** Marca 2 de jabón; **Marca1Pae:** Marca 1 de jabón;
F1Paerugi: formulación 1; **F2 Paerugi:** formulación 2; **F3 Paerugi:** formulación 3.

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Se halló un valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) de 8.3430 y un valor de la probabilidad asociado al estadístico (P) de 0.1383. Debido a que el valor de la probabilidad asociado al estadístico (P) es mayor que el alfa escogido (0.05); se acepta la hipótesis nula y se concluye que ningún jabón líquido antibacteriano está generando un halo de inhibición diferente a los demás. Esto quiere decir que todos los jabones líquidos actúan de manera similar sobre la *Pseudomonas aeruginosa*

ATCC 19429.

En este caso no fue necesario realizar la prueba *a posteriori* (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test).

4.9.3. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de tres marcas comerciales en *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Se hicieron diluciones de la marca 2 al 50 %, 25 % y 12,5 %, ya que en una prueba previa se evidenció que al 100 % el jabón inhibía totalmente el crecimiento de la bacteria en la totalidad de la caja Petri.

Tabla 61 Diámetro de los halos obtenidos en mm de los seis jabones líquidos antibacterianos para *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Marca 1	43,1	46,2	26,9	43,3	44,4	46,6
Marca 2 100 %	64,7	75,6	73,5	79,2	78,0	77,3
Marca 2 50 %	67,0	78,8	72,1	76,7	75,3	67,0
Marca 2 25 %	85,8	72,6	58,2	62,7	-	69,5
Marca 2 12,5 %	68,9	83,3	82,9	84,8	86,2	73,5
Marca 3	15,6	21,3	21,1	16,5	18,2	18,1
Fórmula 1	17,4	18,3	19,7	20	21,6	22,6
Fórmula 2	22,8	21,5	22,4	20,9	23,1	21,8
Fórmula 3	21,9	22,1	18,2	21	18,7	18,8

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Donde: **Marca 2 100 %**: Marca 2 de jabón dilución al 100 %; **Marca 2 50 %**: Marca 2 de jabón dilución al 50 %; **Marca 2 25 %**: marca 2 de jabón dilución al 25 %; **Marca 12,5 %**: marca 2 de jabón dilución al 12,5 %

Nota: el signo – representa que son datos descartables ya que según la técnica se necesitan 4 repeticiones mínimas con halos medibles.

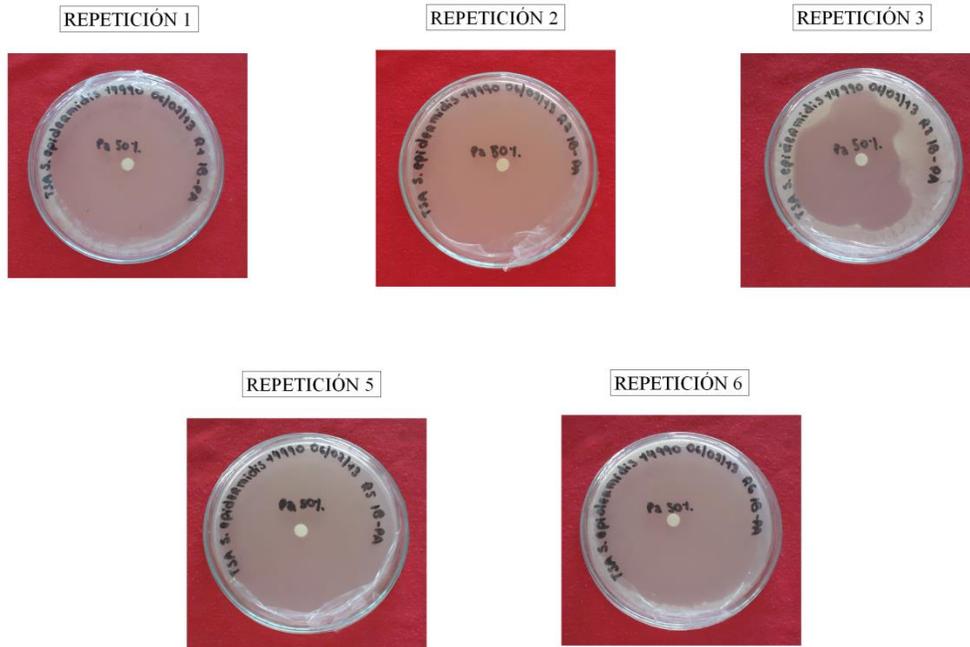
Los resultados serán discutidos después de las tablas 62 y 63.

Figura 28 Halos obtenidos de Marca 2 al 100 % frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990



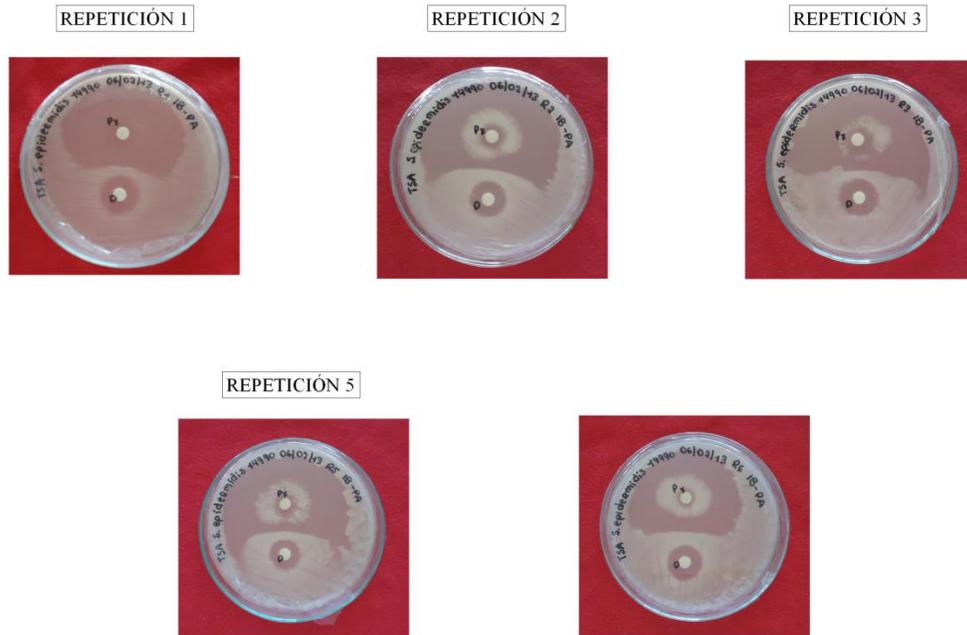
Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 29 Halos obtenidos de Marca 2 al 50 % frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990



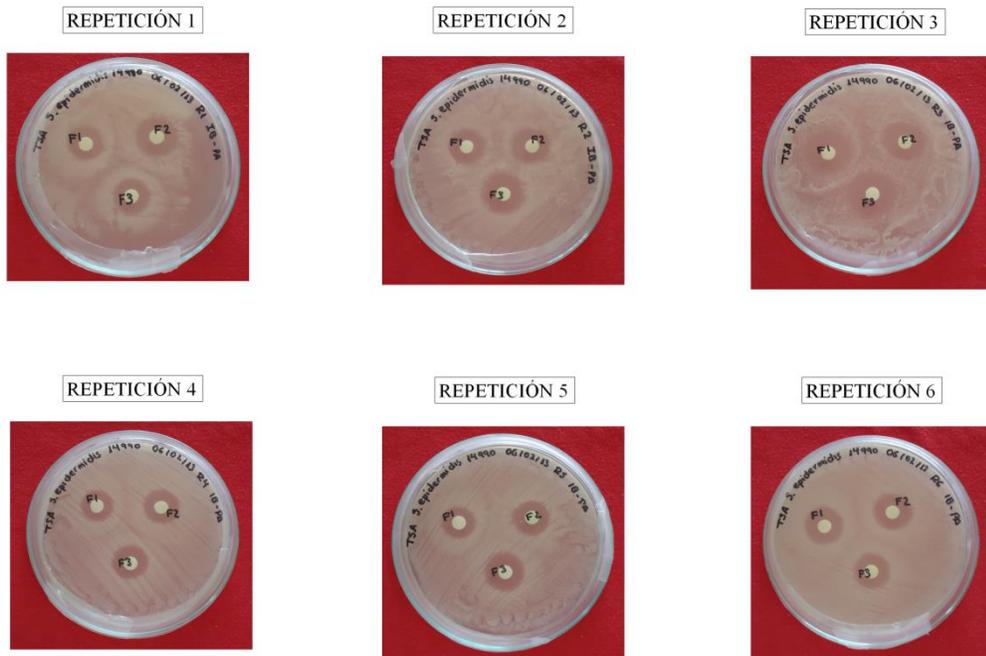
Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 30 Halos obtenidos de Marca 1 y Marca 3 frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 31 Halos obtenidos de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.9.3.1. Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Tabla 62 Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size		
Marca3Sep	5.6	5		
F1Sepider	18.3	6		
F2Sepider	11.1	6		
F3Sepider	12.0	6		
Marca2100	47.0	6		
Marca212S	32.4	5		
Marca225S	37.2	6		
Marca250S	40.4	5		
Marca1Sep	26.0	5		
Total	25.5	50		
Kruskal-Wallis Statistic			45.0654	
P-Value, Using Chi-Squared Approximation			0.0000	

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	8	9575.5	1196.94	58.7	0.0000
Within	41	836.0	20.39		
Total	49	10411.5			

Total number of values that were tied 4
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 50 Missing Cases 4

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Se halló un valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) de 45.0654 y un valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) de 0.0000. Como se observa, el valor de la probabilidad asociada al estadístico es menor que el alfa escogido (0.05), por tal razón, se concluye que al menos uno de los jabones líquidos antibacterianos está generando un halo de inhibición diferente a los otros.

Para determinar el jabón líquido antibacteriano que está generando tal diferencia en el halo de inhibición, se realizó una prueba *a posteriori* en la que se comparan las

medias de todos los pares posibles de jabones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 63.

Tabla 63 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Marca2100	47.000	A
Marca250S	40.400	AB
Marca225S	37.167	ABC
Marca212S	32.400	ABCD
Marca1Sep	26.000	ABCD
F1Sepider	18.250	BCD
F3Sepider	12.000	CD
F2Sepider	11.083	CD
Marca3Sep	5.6000	D
Alpha		0.05
Critical Z Value	3.197	

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Marca3Sep: Marca 3 de jabón; **Marca2100:** Marca 2 de jabón dilución al 100 %; **Marca250S:** Marca 2 de jabón dilución al 50%; **Marca225S:** Marca 2 de jabón dilución al 25 %; **Marca212S:** Marca 2 de jabón dilución al 12,5 %; **Marca1Sep:** Marca 1 de jabón; **F1Sepider:** formulación 1; **F2Sepider:** formulación 2; **F3Sepider:** formulación 3

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

De acuerdo a los resultados de la tabla 63, hay cuatro grupos de jabones líquidos antibacterianos estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: Marca 2 al 100 %, Marca 2 dilución al 50 %, Marca 2 dilución al 25 %, Marca 2 dilución al 12,5 % y Marca 1; grupo B: Marca 2 dilución al 50 %, Marca 2 dilución al 25 %, Marca 2 dilución al 12,5 %, Marca 1 y formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado; grupo C: Marca 2 dilución al 25 %, Marca 2 dilución al 12,5 %, Marca 1, formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado,

formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado y formulación 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado y grupo D: marca 2 dilución al 12,5 %, Marca 1, formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado, formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado, formulación 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado y Marca 3.

Haciendo una comparación en la prueba *a posteriori* se evidenció una vez mas que el jabón Marca 2 presenta los mayores rangos aun con sus diluciones (100 %= 47.000, 50 %= 40.400, 25 %= 37,167 y 12,5 %= 32,400) considerándolo como el jabón con la mejor efectividad antibacteriana, formando un solo grupo. En cuánto a las formulaciones realizadas, la formulación 1 fue la que tuvo la mejor efectividad con un rango de 18.250.

4.9.4. Estudio de la actividad antibacteriana del jabón líquido antibacteriano elaborado y de tres marcas comerciales en *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Se hicieron diluciones de Marca 2 de jabón al 50 %, 25 % y 12,5 %, ya que en una prueba previa se evidenció que al 100 % el jabón inhibía totalmente el crecimiento de la bacteria en la totalidad de la caja Petri.

Tabla 64 Diámetro de los halos obtenidos en mm de los seis jabones líquidos antibacterianos para *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

	R1	R2	R3	R4	R5	R6
Marca 1	43,1	46,2	26,9	43,3	44,4	46,6
Marca 2 100 %	64,7	75,6	73,5	79,2	78,0	77,3
Marca 2 50 %	67,0	78,8	72,1	76,7	75,3	67,0
Marca 2 25 %	85,8	72,6	58,2	62,7	-	69,5
Marca 2 12,5 %	68,9	83,3	82,9	84,8	86,2	73,5
Marca 3	15,6	21,3	21,1	16,5	18,2	18,1
Formula 1	22,1	24,5	22,0	26,6	21,6	23,1
Formula 2	23,7	21,1	19,5	20,7	20,8	19,1
Formula 3	21,4	24,4	18,2	20,3	26,5	18,8

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

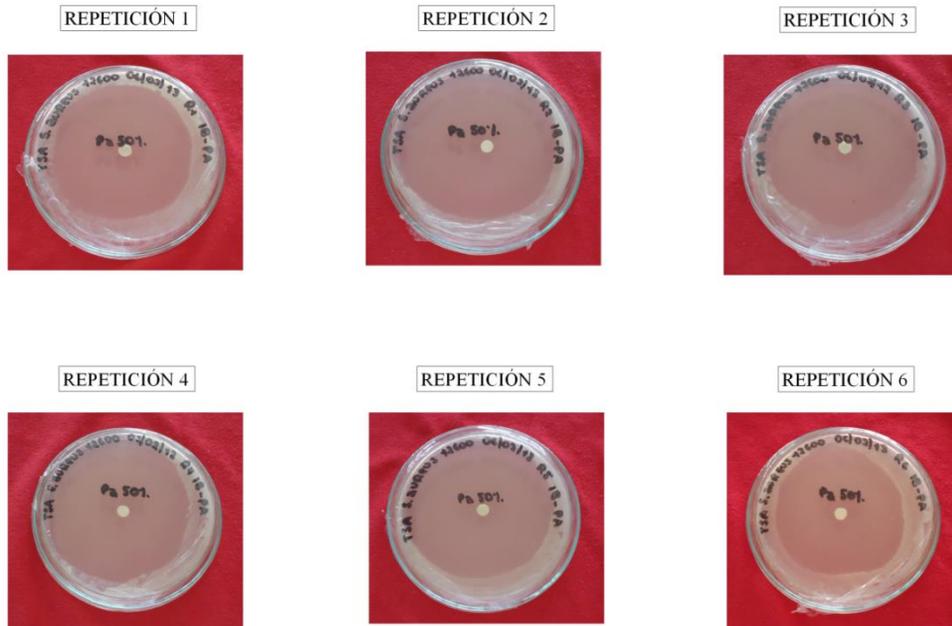
Donde: **Marca 2 100 %:** Marca 2 de jabón dilución al 100 %; **Marca 2 50 %:** Marca 2 de jabón dilución al 50 %; **Marca 2 25 %:** marca 2 de jabón dilución al 25 %; **Marca 12,5 %:** marca 2 de jabón dilución al 12,5 %

Nota: el signo – representa que son datos descartables ya que según la técnica se necesitan 4 repeticiones mínimas con halos medibles.

Los resultados serán discutidos después de las tablas 65 y 66.

Comparando los datos del antibiograma por separado del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) con el antibiograma frente a los jabones, se nota un gran aumento de la sensibilidad de la bacteria, esto se debe a que según Tortora , Funke y Christiane (2007), los tensoactivos rompen la tensión superficial de la membrana plasmática y por eso los principios activos pueden actuar de una mejor manera.

Figura 32 Halos obtenidos de Marca 2 al 50 % frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600



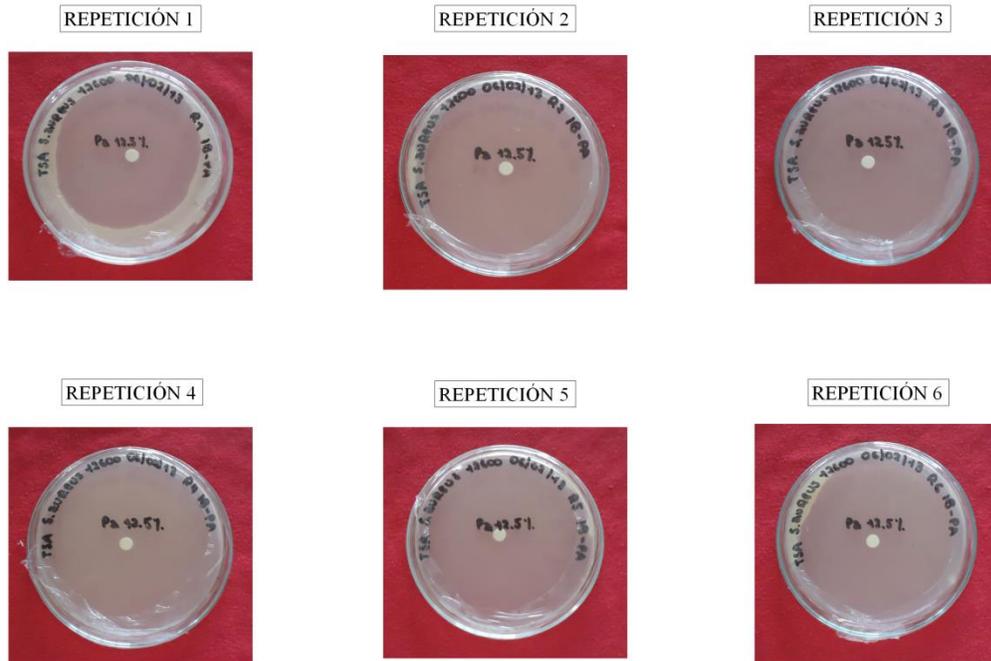
Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 33 Halos obtenidos de Marca 2 al 25 % frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600



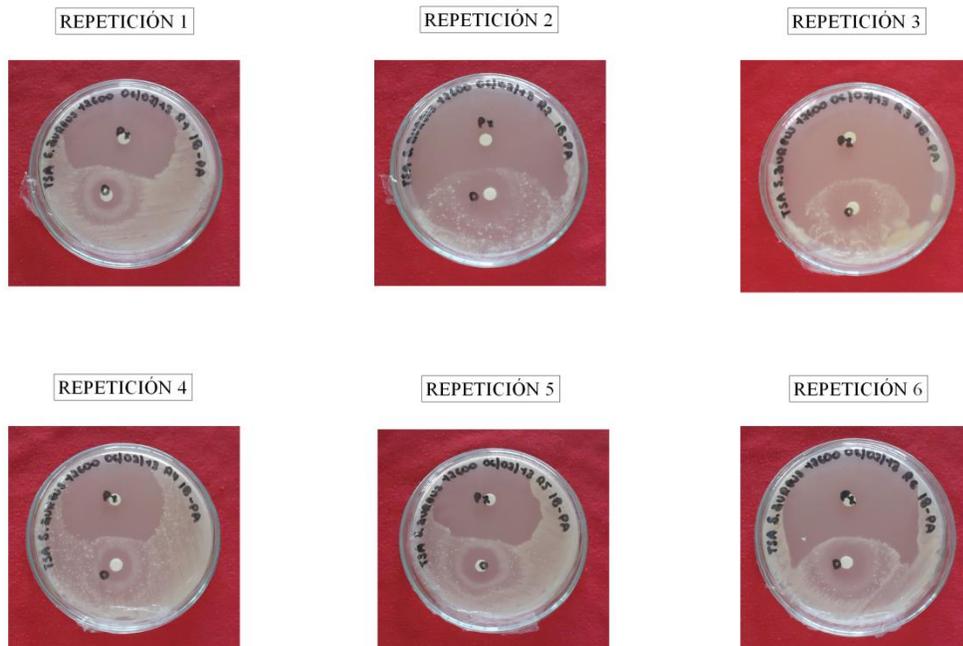
Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 34 Halos obtenidos de Marca 2 al 12,5 % frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600



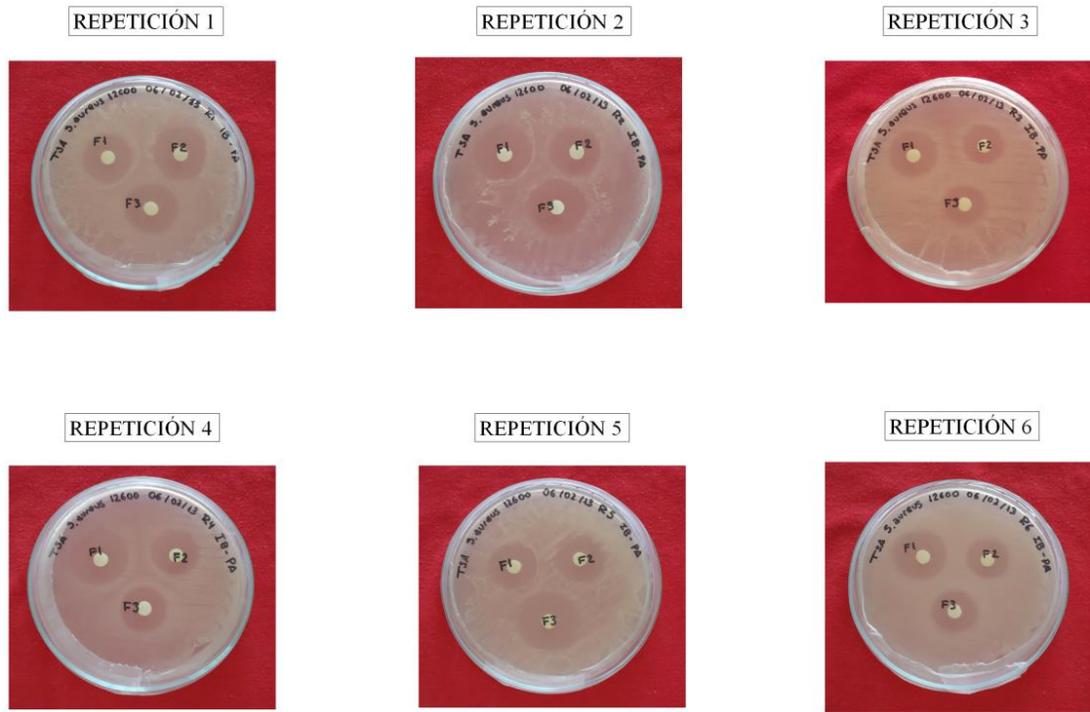
Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 35 Halos obtenidos de Marca 1 y Marca 3 frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Figura 36 Halos obtenidos de las tres formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600



Fuente: Marco Ibarra y Erika Paredes.

4.9.4.1. Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Tabla 65 Test Kruskal-Wallis para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Kruskal-Wallis One-Way Nonparametric AOV

Variable	Mean Rank	Sample Size
Marca3	6.2	6
F1Saureus	19.3	6
F2Saureus	11.4	6
F3Saureus	13.1	6
Marca2100	42.6	6
Marca212S	46.6	6
Marca225S	38.2	5
Marca250S	40.0	6
Marca1Sau	27.5	6
Total	27.0	53
Kruskal-Wallis Statistic		46.0313
P-Value, Using Chi-Squared Approximation		0.0000

Parametric AOV Applied to Ranks

Source	DF	SS	MS	F	P
Between	8	10976.7	1372.09	42.4	0.0000
Within	44	1423.3	32.35		
Total	52	12400.0			

Total number of values that were tied 8
 Max. diff. allowed between ties 0.00001
 Cases Included 53 Missing Cases 1

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Se encontró un valor del estadístico de Kruskal-Wallis (H) de 46.0313 y un valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) de 0.0000. Comparando el valor de la probabilidad asociada al estadístico (P) con el alfa escogido, 0.0000 es menor a 0.05 por tal razón, se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que al menos uno de los jabones líquidos antibacterianos está generando un halo de inhibición diferente a los otros.

Para determinar el jabón líquido antibacteriano que está generando tal halo de inhibición, se realizó una prueba *a posteriori* en la que se comparan las medianas de todos los pares posibles de jabones (Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test), de la cual se obtuvieron los siguientes resultados que se observan en la tabla 66.

Tabla 66 Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons para los seis jabones líquidos antibacterianos en *Staphylococcus aureus* ATCC 12600

Kruskal-Wallis All-Pairwise Comparisons Test

Variable	Mean	Homogeneous Groups
Marca212S	46.583	A
Marca2100	42.583	A
Marca250S	40.000	AB
Marca225S	38.200	ABC
Marca1Sau	27.500	ABCD
F1Saureus	19.333	ABCD
F3Saureus	13.083	BCD
F2Saureus	11.417	CD
Marca3	6.1667	D
Alpha		0.05
Critical Z Value	3.197	

There are 4 groups (A, B, etc.) in which the means are not significantly different from one another.

Donde:

Marca3Sep: Marca 3 de jabón; **Marca2100:** Marca 2 de jabón dilución al 100 %; **Marca250S:** Marca 2 de jabón dilución al 50%; **Marca225S:** Marca 2 de jabón dilución al 25 %; **Marca212S:** Marca 2 de jabón dilución al 12,5 %; **Marca1Sau:** Marca 1 de jabón; **F1Saureus:** formulación 1; **F2Saureus:** formulación 2; **F3aureus:** formulación 3

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

De acuerdo a los resultados de la tabla 66, hay cuatro grupos de jabones líquidos antibacterianos estadísticamente afines entre sí. Estos grupos son: grupo A: Marca 2 dilución al 12,5 %, Marca 2 al 100 %, Marca 2 dilución al 50 %, Marca 2 dilución al 25 %, Marca 1 y formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado; grupo B: Marca 2 dilución al 50 %, Marca 2 dilución al 25 %, Marca 1, formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado y formulación 3 del jabón líquido

antibacteriano elaborado; grupo C: Marca 2 dilución al 25 %, Marca 1, formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado, formulación 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado y formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado; y grupo D: Marca 1, formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado, formulación 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado, formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado y Marca 3.

Se puede observar que una vez más en la tabla 66 que la Marca 2 de jabón es la más efectiva, aunque esta vez la mejor concentración fue de 12,5% con un rango de 46.583, mientras que la mejor formulación fue la formulación 1 con un rango de 19.333 formando parte del grupo A.

4.10. Control de calidad del jabón líquido antibacteriano elaborado

Las pruebas que se realizaron de control de calidad están basadas en las especificaciones de la ficha técnica de producto terminado de jabón líquido para manos y cuerpo de la industria INDULATEX (2010), que ha sido tomado de referente en función que el país no tiene una regulación al respecto.

4.10.1. Características sensoriales

Tabla 67 Características sensoriales de la formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado

Característica	Especificación
Apariencia	Líquido viscoso no traslúcido
Color	Amarillo pálido
Olor	Característico a paico (concentrado)

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Tabla 68 Características sensoriales de la formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado

Característica	Especificación
Apariencia	Líquido viscoso no traslúcido
Color	Verde oliva claro
Olor	Característico a paico (concentrado)

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Tabla 69 Características sensoriales de la formulación 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado

Característica	Especificación
Apariencia	Líquido viscoso no traslúcido
Color	Verde oliva
Olor	Característico a paico (leve)

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Las especificaciones mencionadas en las tablas 67, 68 y 69; son especificaciones propias porque es un producto elaborado.

4.10.2. Características físico – químicas

4.10.2.1. Determinación del pH

Tabla 70 pH de las formulaciones del jabón líquido antibacteriano elaborado

	F1	F2	F3
1	6,800	6,764	6,872
2	6,788	6,755	6,870
3	6,780	6,760	6,873
Promedio	6,7893	6,7597	6,8717

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Donde: **F1:** jabón líquido antibacteriano elaborado 1; **F2:** jabón líquido antibacteriano elaborado 2; **F3:** jabón líquido antibacteriano elaborado 3

pH de la formulación 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado = 6,8

pH de la formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado = 6,8

pH de la formulación 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado = 6,9

El pH obtenido de la formulación 1, formulación 2 y formulación 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado es 6,8, 6,8 y 6,9, respectivamente, y en comparación con las especificaciones de la ficha técnica de producto terminado de jabón líquido para manos y cuerpo de la industria INDULATEX (2010), que va de 6 a 7,5; el pH de las formulaciones cumplen con las especificaciones requeridas.

4.10.2.2. Determinación de la densidad

Tabla 71 Determinación de la densidad relativa de la fórmula 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado

	1	2	3
Masa del picnómetro con la muestra (M₁) (g)	6,4232	6,4228	6,4225
Masa del picnómetro con el agua (M₂) (g)	6,3619	6,3617	6,3615
Masa del picnómetro vacío (M) (g)	5,4080	5,4079	5,4081
Densidad relativa (D₂₀)	1,0643	1,0641	1,0640

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes

Nota: la determinación de la densidad se basa en la ecuación 9 solo que es a 20°C.

Promedio de D₂₀ = 1,0641

Densidad relativa de la fórmula 1 del jabón líquido antibacteriano elaborado = 1,06

Tabla 72 Determinación de la densidad relativa de la fórmula 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado

	1	2	3
Masa del picnómetro con la muestra (M₁) (g)	6,4097	6,4095	6,4094
Masa del picnómetro con el agua (M₂) (g)	6,3619	6,3617	6,3615
Masa del picnómetro vacío (M) (g)	5,4080	5,4079	5,4081
Densidad relativa (D₂₀)	1,0501	1,0501	1,0502

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: la determinación de la densidad se usa en la ecuación 9 solo que es a 20°C.

Promedio de D₂₀ = 1,0502

Densidad relativa de la fórmula 2 del jabón líquido antibacteriano elaborado = 1,05

Tabla 73 Determinación de la densidad relativa de la fórmula 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado

	1	2	3
Masa del picnómetro con la muestra (M₁) (g)	6,4283	6,428	6,4279
Masa del picnómetro con el agua (M₂) (g)	6,3619	6,3617	6,3615
Masa del picnómetro vacío (M) (g)	5,4080	5,4079	5,4081
Densidad relativa (D₂₀)	1,0696	1,0695	1,0696

Elaborado por: Marco Ibarra y Erika Paredes.

Nota: la determinación de la densidad se usa en la ecuación 9 solo que es a 20°C.

Media de D₂₀ 1, D₂₀ 2 y D₂₀ 3 = 1,0696

Densidad relativa de la fórmula 3 del jabón líquido antibacteriano elaborado = 1,07

La densidad obtenida de la formulación 1 es de 1,06; de la formulación 2 es de 1,05; y de la formulación 3 es de 1,07; y haciendo una comparación con las especificaciones de la ficha técnica de producto terminado de jabón líquido para manos y cuerpo de la industria INDULATEX (2010), donde se señalan los rangos permisibles que van de 1,015 a 1,07; las densidades que se obtuvieron de las tres formulaciones de jabón líquido antibacteriano elaborado, cumplen con las especificaciones requeridas.

CONCLUSIONES

- La determinación de materias extrañas y los análisis físico-químicos, pruebas del control de calidad realizado en marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y paico (*Chenopodium ambrosioides* L.); demostró que la droga seleccionada es de buena calidad, ya que cumplió con los parámetros establecidos para cada prueba.
- La obtención del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) mediante el método de percolación, y el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) mediante el método de destilación por arrastre de vapor; tuvieron un rendimiento de 2,7 % y 0,14 % respectivamente, siendo unos porcentajes bajos en comparación a otras investigaciones, pero esto se debió a los distintos parámetros existentes durante el proceso.
- El control de calidad realizado para el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), permitió comprobar que éstos están en dentro de los rangos establecidos en comparación con otras investigaciones realizadas.
- Mediante la técnica de antibiograma o difusión en disco se comprobó que el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), poseen actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429, *Escherichia coli* ATCC 11229 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990; ya que todas las bacterias presentaron halos de inhibición. Aprobando así la hipótesis alternativa (Ha).
- Frente al extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) el *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 fue la bacteria que presentó mayor

sensibilidad; debido a que los halos de inhibición tuvieron un mayor diámetro, alrededor de los 20 mm en la concentración de 640 ppm.

- En la prueba *a posteriori* de la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis para todas las bacterias las concentraciones que presentaron los mayores rangos y por lo que se consideran las más efectivas en el aceite esencial del paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), fueron del 5 % y 2 %. Para el extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) fueron de 640 ppm y 320 ppm frente a *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429; para *Escherichia coli* ATCC 11229 fue de 40 ppm y para *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 fue de 20 ppm.
- Mediante la técnica de antibiograma o difusión en disco se comprobó que las formulaciones del jabón líquido elaborado poseen actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429, *Escherichia coli* ATCC 11229 y *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990; ya que hubo halo de inhibición en todas las formulaciones.
- En el caso de *Escherichia coli* ATCC 11229 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429, no se vió una potencialización de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y el aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.), ya que cuando se los mezcló en la formulación, se obtuvieron halos de 6,7 mm a 8,3 mm; datos similares en comparación a los halos obtenidos de las pruebas del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) con halos de 6,1 mm a 9,0 mm y aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) con halos de 6,7 mm a 9,6 mm.
- Para el caso del *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 si se evidenció una posible potencialización de la actividad antibacteriana del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) y del aceite esencial de paico

(*Chenopodium ambrosioides* L.), ya que mezclados en la formulación se obtuvieron halos de 18,8 mm a 26,6 mm, diferentes en comparación a las pruebas del extracto blando de marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) con halos de 6,3 mm a 11,8 mm; y del aceite esencial de paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) con halos de 6,6 mm a 9,1 mm. Esto también se debe a la ayuda del tensoactivo en romper la tensión superficial de la membrana plasmática para que los principios activos entren de mejor manera a la célula de la bacteria.

- De acuerdo a la prueba *a posteriori* de la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis para *Escherichia coli* ATCC 11229 la formulación más efectiva fue la fórmula 2 que se agrupa con la Marca 2 y Marca 1 en el grupo A, para *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 la formulación más efectiva fue la fórmula 1 que forma parte del grupo B junto a Marca 2 diluido al 50 %, 25 %, 12,5 % y Marca 1 y para *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 las formulaciones 1 y 3 son las mejores ya que se agrupan con la Marca 2 diluido al 50 %, 25 % y Marca 1 en el grupo B.
- Los jabones tuvieron efectividad similar para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429, ya que en la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis se aprobó la hipótesis nula (H_0).
- El control de calidad realizado en las formulaciones del jabón líquido elaborado generó resultados que se encuentran dentro de las especificaciones de productos comerciales.

RECOMENDACIONES

- Las formulaciones elaboradas presentan resultados de actividad antibacteriana, sin embargo, es necesario trabajar en alternativas para la formulación que logren enmascarar características organolépticas propias del uso de aceites esenciales; para no interferir con el estudio de la actividad antibacteriana, objeto de esta investigación.
- Conjuntamente con generar alternativas de formulaciones, se debería realizar estudios de estabilidad de las fórmulas, temas que deberían ser tratados en el campo de la Tecnología Cosmética, utilizando los resultados de eficacia de ingredientes naturales, que ha generado esta investigación.
- Para futuras investigaciones se recomienda profundizar acerca de la actividad acaricida y antimicótica que posee el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.).
- Debido a que el paico (*Chenopodium ambrosioides* L.) y el marco (*Ambrosia arborescens* Mill.) son usados en algunas etnias contra las caries, sería bueno hacer investigaciones que corroboren esta creencia.

LISTA DE REFERENCIAS

- Ales, I. (2008). Recuperado el 10 de julio de 2011, de <http://www.ales.com.ec>
- Aragadvay. (2009). Recuperado el 12 de marzo de 2013, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec>
- Ayala, R., Osorio, J., y Santos, F. (2009). Recuperado el 30 de diciembre de 2011, de <http://www.slideshare.net>
- Bodero, M. (2010). Recuperado el 6 de septiembre de 2012, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec>
- Brea, K., Alcántara, F., Acosta, S., y Padrón, Y. (2012). Recuperado el 7 de septiembre de 2012, de <http://www.slideshare.net>
- Bucay, L. (2009). Recuperado el 12 de marzo de 2013, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec>
- Cabieses, F. (1993). Recuperado el 7 de mayo de 2011, de <http://books.google.com.ec>
- Carballo, C., Alfaro, T., Palazón, Z., Ramos, R., Rodríguez, C., Cabezas, C., y otros. (2002). Recuperado el 12 de marzo de 2013, de <http://www.bvs.sld.cu>
- Carlone, N., y Pompei, R. (2013). *Microbiología Farmacéutica*. Napoli: EdiSES.
- Cenarhu. (2012). Recuperado el 3 de enero de 2012, de <http://www.cenarhu.com>
- Cerutti, M., y Neumayer, F. (2004). Recuperado el 31 de julio de 2012, de <http://redalyc.uaemex.mx>
- Collection, A. T. (2012). Recuperado el 8 de noviembre de 2012, de <http://www.atcc.org>
- Cruz, P. (2009). Recuperado el 2011 de mayo de 23, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec>
- Custodio, J. (2009). Recuperado el 30 de diciembre de 2011, de <http://www.slideshare.net>
- De la Torre, L., y Navarrete, H. (2008). *Enciclopedia de las plantas útiles del Ecuador*. Quito: Herbario Nacional QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la PUCE.
- Doctors, F. (2008). Recuperado el 10 de junio de 2013, de <http://www.fooddoctors.com>

- Farmacopea Argentina. (2008). Recuperado el 19 de junio de 2013, de <http://www.anmat.gov.ar>
- Galema, T., Oblitas, S., y Castellví, X. (2009). Recuperado el 26 de junio de 2011, de <http://www.gotaverde.org>
- Gamazo, C., López-Goñi, I., y Díaz, R. (2005). *Manual práctico de Microbiología*. Barcelona: Editorial MASSON S.A.
- Gamiño Arroyo, A. E., Barrios Ceballos, M. P., Cadena de la Peña, L. P., Anaya Velázquez, F., y Padilla Vaca, F. (3 de septiembre de 2005). Recuperado el 30 de diciembre de 2011, de <http://www.redalyc.org>
- Garcés, I., y Reyes, J. (1997). Correlación generalizada para predecir el índice de refracción en soluciones salinas naturales. *Información Tecnológica*, 190.
- González, A. (2011). Recuperado el 30 de diciembre de 2011, de <http://microral.wikispaces.com>
- Granados, R., y Villaverde, M. (2002). *Microbiología 2*. Magallanes: Paraningo.
- Gupta, M. (1995). *270 Plantas Medicinales Iberoamericanas*. Santafé de Bogotá: Editorial Presencia Ltda.
- INDULATEX. (2010). Recuperado el 28 de febrero de 2013, de <http://indulatex.co>
- Jaramillo, B., Duarte, E., y Delgado, W. (2012). Recuperado el 18 de febrero de 2012, de <http://scielo.sld.cu>
- Jorgensen, P., y León-Yáñez, S. (1999). *Catalogue of the Vascular Plants of Ecuador*. Missouri: Missouri Botanical Garden Press.
- León, C. (2009). Recuperado el 9 de marzo de 2013, de <http://www.unac.edu.pe>
- Madigan, M., Martinko, J., y Parker, J. (1999). *Brock Biología de los Microorganismos*. Madrid: Prentice Hall Iberia.
- Maimome, S. (2004). Recuperado el 27 de junio de 2012, de <http://www.codeinep.org>
- Malbrán, C. (2001). Recuperado el 5 de agosto de 2012, de <http://www.cdc.gov>
- Martínez, J. (31 de octubre de 2011). Recuperado el 20 de junio de 2013, de <http://www.elmodernoprometeo.es>
- Martini, M.-C. (2005). *Introducción a la dermofarmacia y a la cosmetología*. Zaragoza: ACRIBIA, S.A.

- Microbiologics. (2011). Saint Cloud: Microbiologics Retail Catalog.
- Miranda, M. (2002). *Farmacognosia y Productos Naturales*. Habana: Editorial Félix Varela.
- Mori del Águila, T. d., Ruiz Sánchez, E., Bardales García, J., García Dávila, M., Tresierra Ayala, Á., Arévalo Encinas, L., y otros. (2010). *Unapiquitos*. Recuperado el 6 de julio de 2011, de <http://www.unapiquitos.edu.pe>
- Naranjo, P., y Crespo, A. (1997). *Etnomedicina: progresos Italo-Latinoamericanos*. Quito: Ediciones Abya-Yala.
- Naranjo, P., y Escaleras, R. (1995). *La Medicina Tradicional en el Ecuador*. Quito: Corporación Editora Nacional.
- Otto, M. (2009). *Staphylococcus epidermidis* - the "accidental" pathogen. *Nature Reviews - Microbiology*, 555.
- Rojas, N. (2009). Recuperado el 7 de agosto de 2012, de <http://es.scribd.com>
- Sánchez, L., y Sáenz, E. (2006). Infecciones cutáneas bacterianas. *Dermatología peruana*, 7-9.
- Science, B. C. (2008). Recuperado el 28 de octubre de 2012, de <http://www.bayercropscience.com.pe>
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos*. Santafé de Bogotá, D.C.: Quebecor – Impreandes.
- Simmons, J. (2000). *Cosméticos: Formulación, Preparación y Aplicación*. Madrid: A. Madrid Vicente, Ediciones.
- Tafurt, G., Jairo, G., Martínez, R., y Stashenko, E. (2005). Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta. *Revista Colombiana de Química*, 48.
- Tortora , J., Funke , B., y Christiane, L. (2007). *Introducción a la Microbiología*. Buenos Aires: Panamericana.
- Trigoso, C., Torrico, E., y Riera, E. (2003). Recuperado el 6 de agosto de 2012, de <http://enfermeria.bvsp.org.bo>
- TV, E. (2011). Recuperado el 28 de junio de 2011, de <http://www.ecuadortv.ec>
- Universidad de Navarra, M. C. (2005). Recuperado el 28 de junio de 2011, de <http://www.unavarra.es>

Universidad Nacional del Nordeste, F. d. (2013). Recuperado el 13 de enero de 2013, de <http://www.med.unne.edu.ar>

Universidad Politécnica de Madrid, F. d. (2012). Recuperado el 7 de agosto de 2012, de <http://ocw.upm.es>

Valle, P., y Bernardo, L. (2000). Recuperado el 28 de octubre de 2012, de <http://es.scribd.com>

Vega, M. (2001). Recuperado el 31 de diciembre de 2012, de <http://books.google.com.ec>

Vera, M. (27 de agosto de 2008). Recuperado el 31 de diciembre de 2011, de <http://www.espe.edu.ec>

Anexo 4



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0681 Lot Number: 681-40 Reference Number: ATCC® 11229™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Source: 4</p>	<p>Expiration Date: 2013/04 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2011/6/27</p>																																																																																																
Performance																																																																																																	
<p>Macroscopic Features: Large, irregular, raised, gray and rough; greening of agar may be present.</p> <p>Microscopic Features: Gram negative straight rod.</p>	<p>Medium: SBAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>																																																																																																
<p>Vitek GN (1)</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 80%;">Phenotypic Features</th> <th style="width: 20%;">Results</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ADONITOL</td><td>-</td></tr> <tr><td>Pyrrrolydonyl-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-ARABITOL</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-CELLULOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-GALACTOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>H₂S PRODUCTION</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Glutamyl Arylamidase pNA</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-GLUCOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>FERMENTATION/GLUCOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-MALTOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>D-MANNITOL</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-MANNOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA-XYLOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>BETA-Alanine arylamidase pNA</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-Proline ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>LIPASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>PALATINOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Tyrosine ARYLAMIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>UREASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-SORBITOL</td><td>+</td></tr> <tr><td>SACCHAROSE/SUCROSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-TAGATOSE</td><td>-</td></tr> <tr><td>D-TREHALOSE</td><td>+</td></tr> <tr><td>CITRATE (SODIUM)</td><td>-</td></tr> <tr><td>MALONATE</td><td>-</td></tr> <tr><td>5-KETO-D-GLUCONATE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-LACTATE alkalization</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GLUCOSIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>SUCCINATE alkalization</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ALPHA-GALACTOSIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>PHOSPHATASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>Glycine ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>ORNITHINE DECARBOXYLASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>LYSINE DECARBOXYLASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-HISTIDINE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>COURMARATE</td><td>+</td></tr> <tr><td>BETA-GLUCORONIDASE</td><td>+</td></tr> <tr><td>O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)</td><td>+</td></tr> <tr><td>Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE</td><td>-</td></tr> <tr><td>L-MALATE assimilation</td><td>-</td></tr> <tr><td>ELLMAN</td><td>+</td></tr> <tr><td>L-LACTATE assimilation</td><td>-</td></tr> </tbody> </table>	Phenotypic Features	Results	Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-	ADONITOL	-	Pyrrrolydonyl-ARYLAMIDASE	-	L-ARABITOL	-	D-CELLULOSE	-	BETA-GALACTOSIDASE	+	H ₂ S PRODUCTION	-	BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	-	Glutamyl Arylamidase pNA	-	D-GLUCOSE	+	GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	-	FERMENTATION/GLUCOSE	+	BETA-GLUCOSIDASE	-	D-MALTOSE	+	D-MANNITOL	-	D-MANNOSE	+	BETA-XYLOSIDASE	-	BETA-Alanine arylamidase pNA	-	L-Proline ARYLAMIDASE	-	LIPASE	-	PALATINOSE	-	Tyrosine ARYLAMIDASE	+	UREASE	-	D-SORBITOL	+	SACCHAROSE/SUCROSE	-	D-TAGATOSE	-	D-TREHALOSE	+	CITRATE (SODIUM)	-	MALONATE	-	5-KETO-D-GLUCONATE	-	L-LACTATE alkalization	-	ALPHA-GLUCOSIDASE	-	SUCCINATE alkalization	+	BETA-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	-	ALPHA-GALACTOSIDASE	+	PHOSPHATASE	-	Glycine ARYLAMIDASE	-	ORNITHINE DECARBOXYLASE	+	LYSINE DECARBOXYLASE	-	L-HISTIDINE assimilation	-	COURMARATE	+	BETA-GLUCORONIDASE	+	O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+	Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	-	L-MALATE assimilation	-	ELLMAN	+	L-LACTATE assimilation	-	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; transform: rotate(-15deg); margin: 10px auto; width: fit-content;"> MEDIBAC INC. DISTRIBUIDOR DE MICROBIO- LOGOS GARANTIZA QUE ESTE PRODUCTO Y CERTIFICADO SON ORIGINALES LOTE: _____ EXPIRACION: _____ </div> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;"> <p>Brad Goskowicz, President AUTHORIZED SIGNATURE</p> </div>
Phenotypic Features	Results																																																																																																
Ala-Phe-Pro-ARYLAMIDASE	-																																																																																																
ADONITOL	-																																																																																																
Pyrrrolydonyl-ARYLAMIDASE	-																																																																																																
L-ARABITOL	-																																																																																																
D-CELLULOSE	-																																																																																																
BETA-GALACTOSIDASE	+																																																																																																
H ₂ S PRODUCTION	-																																																																																																
BETA-N-ACETYL-GLUCOSAMINIDASE	-																																																																																																
Glutamyl Arylamidase pNA	-																																																																																																
D-GLUCOSE	+																																																																																																
GAMMA-GLUTAMYL-TRANSFERASE	-																																																																																																
FERMENTATION/GLUCOSE	+																																																																																																
BETA-GLUCOSIDASE	-																																																																																																
D-MALTOSE	+																																																																																																
D-MANNITOL	-																																																																																																
D-MANNOSE	+																																																																																																
BETA-XYLOSIDASE	-																																																																																																
BETA-Alanine arylamidase pNA	-																																																																																																
L-Proline ARYLAMIDASE	-																																																																																																
LIPASE	-																																																																																																
PALATINOSE	-																																																																																																
Tyrosine ARYLAMIDASE	+																																																																																																
UREASE	-																																																																																																
D-SORBITOL	+																																																																																																
SACCHAROSE/SUCROSE	-																																																																																																
D-TAGATOSE	-																																																																																																
D-TREHALOSE	+																																																																																																
CITRATE (SODIUM)	-																																																																																																
MALONATE	-																																																																																																
5-KETO-D-GLUCONATE	-																																																																																																
L-LACTATE alkalization	-																																																																																																
ALPHA-GLUCOSIDASE	-																																																																																																
SUCCINATE alkalization	+																																																																																																
BETA-N-ACETYL-GALACTOSAMINIDASE	-																																																																																																
ALPHA-GALACTOSIDASE	+																																																																																																
PHOSPHATASE	-																																																																																																
Glycine ARYLAMIDASE	-																																																																																																
ORNITHINE DECARBOXYLASE	+																																																																																																
LYSINE DECARBOXYLASE	-																																																																																																
L-HISTIDINE assimilation	-																																																																																																
COURMARATE	+																																																																																																
BETA-GLUCORONIDASE	+																																																																																																
O/129 RESISTANCE (comp.vibrio.)	+																																																																																																
Glu-Gly-Arg-ARYLAMIDASE	-																																																																																																
L-MALATE assimilation	-																																																																																																
ELLMAN	+																																																																																																
L-LACTATE assimilation	-																																																																																																

Anexo 5

	FICHA TÉCNICA PRODUCTO TERMINADO JABON LIQUIDO PARA MANOS Y CUERPO	GD-FT30-V00 Pág. 1 de 3
---	---	---------------------------------------

1. DATOS DE LA EMPRESA

Razón social	INDULATEX S.A.
Dirección	Carrera 9 N° 25 A- 64 Funza vía Siberia
Teléfono	8219181 Fax: 8931963
Email	info@indulatex.com.co
Línea Atención al cliente	018000112110
Director Técnico / Jefe Control Calidad	Mabel González / Viviana Leuro

2. IDENTIFICACION DEL PRODUCTO

DENOMINACIÓN LEGAL	Jabón líquido
DENOMINACIÓN COMERCIAL	Jabón líquido para manos y cuerpo
PRESENTACIONES COMERCIALES	270 mL (válvula, repuesto), 4000 mL, cubeta.
REGISTRO SANITARIO INVIMA	NSC2005CO18128
VIDA ÚTIL:	Un año en buenas condiciones de almacenamiento.

3. INFORMACIÓN TÉCNICA

<ul style="list-style-type: none"> ▪ Contiene sustancias humectantes, tensioactivos aniónicos, suavizante, vitamina E y agradable fragancia para limpieza profunda de las manos ▪ Un jabón con espuma controlada que disuelve la suciedad de las manos, haciéndola fluida y fácil de eliminar.
--

4. INSTRUCCIONES DE USO

<ul style="list-style-type: none"> ▪ Humedezca las manos y/o cuerpo. Aplique el producto, frote haciendo espuma y enjuague.
--

5. CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

DESCRIPCIÓN FÍSICA x 270 mL	
Largo	9,1 Cm
Ancho	4,9 Cm
Alto	17,7 Cm
Peso (producto+ envase)	311 g

6. CARACTERÍSTICA SENSORIAL -METODO ENSAYO

CARACTERÍSTICA	ESPECIFICACION	EQUIPO	METODO
Apariencia	Líquido viscoso translúcido	Visual	Análisis sensorial
Color	Amarillo, rosado, verde.	Visual	Análisis sensorial
Olor	Característico de acuerdo con el estándar.	Olfativo	Análisis sensorial

ELABORO	REVISÓ	APROBO	FECHA DE APROBACIÓN
Nombre: Viviana Leuro	Nombre: Viviana Leuro	Nombre: Mabel González	23 Nov. De 2010
Cargo: Jefe de Control de Calidad	Cargo: Jefe de Control de Calidad	Cargo: Director Técnico	
Firma:	Firma:	Firma:	Versión: 00

 INDULATEX S.A. <small>QUINTAS - INTENDENCIA DEL ESTADO</small>	FICHA TÉCNICA PRODUCTO TERMINADO JABON LIQUIDO PARA MANOS Y CUERPO	GD-FT30-V00
		Pág. 2 de 3

7. CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS - METODO ENSAYO

CARACTERISTICA	ESPECIFICACION	EQUIPO	METODO
pH directo	6 – 7,5	pH metro	CC-TC17-V00
Densidad 20°C	1,015 -1,02	Pienómetro	CC-TC02-V00
Materia Activa (%)	8	Titulación	CC-TC15-V00

8. PRECAUCIONES Y RESTRICCIONES

Manténgase fuera del alcance de los niños y mascotas. No emplee el envase vacío para almacenar alimentos. En caso de contacto con los ojos lave con abundante agua, en caso de ingestión induzca el vomito, tome agua y acuda al médico. Tratamiento sintomático. Suspenda su uso si observa alguna reacción desfavorable.

9. CARACTERISTICAS DE EMPAQUE Y EMBALAJE

EMPAQUE	Contenido Neto	De acuerdo a la presentación ofrecida puede ser: 270 mL, 4000 mL, cufeta.
	Tipo (presentación 270)	Envase PET
	Tipo (presentación 4000)	Envase en PEAD blanco
	Identificación del LOTE	Van 7 dígitos, los tres primeros son el consecutivo del producto, los dos siguientes el mes de fabricación y los dos últimos el año. Ej: 0010900, lote uno del mes 9 (sept.) del año.
EMBALAJE	Tipo(presentación 270)	Caja de Cartón - C-450K
	Dimensiones	Largo: 28,8 cm, Ancho: 21 cm, Alto: 17,8 cm.
	Presentación en envase	12 unidades de 270 mL, 8 unidades x 4000 mL.
	Estibado en envase x 270 mL	18 cajas x capa, 5 capas x estiba. Total cajas x estiba: 95
	Rotulado	Contiene mínimo información referente a: <ul style="list-style-type: none"> Nombre del producto, marca, referencia y contenido. Código de barras (ITF 14). Si aplica. Nº Lote, fecha de empaque.

10. RECOMENDACIONES PARA EL MANEJO Y ALMACENAMIENTO

ALMACENAMIENTO	Temperatura	entre 15°C y 25°C
	Lugar	Fresco y seco.
	Protección	Proteger de la luz solar.
	Estibado	Evitar voladizos en el estibado, Tener en cuenta el arume de estibado impreso en la caja para el apilamiento en bodega.
MANEJO	FIFO (primeras en entrar primeras en salir)	Se maneja en el almacén de producto terminado el FIFO por medio de un sticker de color el cual es pegado en la caja. Cada color corresponde a un mes del año.
	Transporte	*Transportar en vehículos secos, limpios e higiénicos. *Verificar que el vehículo no tenga orificios ni elementos en el piso, que puedan dañar el producto. * Evitar golpes, caídas y presiones para el producto.

	FICHA TÉCNICA PRODUCTO TERMINADO JABON LIQUIDO PARA MANOS Y CUERPO	GD-FT30-V00 Pág. 3 de 3
---	---	----------------------------

11. PROTOCOLO LIBERACION PRODUCTO

Todos los productos son liberados inicialmente por el analista de laboratorio quien revisa las especificaciones sensoriales y fisicoquímicas del producto. En el área de producción los inspectores de calidad llevan un control escrito del producto en donde revisan lote, volumen, marcación, empaque, etc. Antes de pasar al almacén de producto terminado todos los productos en la caja deben tener un sticker de color indicando el estado de calidad (aprobado (verde), cuarentena (anaranjado), rechazado (rojo)).