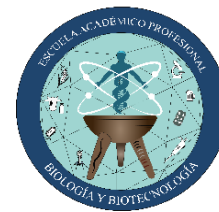




UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
E.P. BIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA



TESIS

**PERFIL FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE
ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva FRENTE A
Escherichia coli ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO**

PRESENTADO POR:

BACH. KATHERINE ESTHER VÁSQUEZ NÚÑEZ

ASESORA:

DRA. BLGA. CARMEN EDDY MEDINA RODRÍGUEZ

CO-ASESORA:

DRA. MBLGA. CLAUDIA CAROLINA RODRÍGUEZ ULLOA

Cajamarca – Perú

2024

CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. Investigador: **Katherine Esther Vásquez Núñez**

DNI N.º 76686520

Escuela Profesional: Biología y Biotecnología

2. Asesor: **Dra. CARMEN EDDY MEDINA RODRÍGUEZ**

Facultad/Unidad UNC: **FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

3. Grado académico o título profesional

Bachiller **Título profesional** Segunda especialidad

Maestro Doctor

4. Tipo de Investigación:

Tesis Trabajo de investigación Trabajo de suficiencia profesional

Trabajo académico

5. Título de Trabajo de Investigación: **"Perfil fitoquímico y actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923"**

6. Fecha de evaluación: 09/09/2024

7. Software antiplagio: **X TURNITIN** **URKUND (ORIGINAL) (*)**



8. Porcentaje de Informe de Similitud: **19%**

9. Código Documento: Identificación de reporte de similitud: **oid:3117:379635206**

10. Resultado de la Evaluación de Similitud:

X APROBADO **PARA LEVANTAMIENTO DE OBSERVACIONES O DESAPROBADO**

Cajamarca, 10 de setiembre del 2024



Dra. MARTHA VICENTA ABANTO VILLAR
DIRECTORA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN FCS-UNC
DNI: 26673990

*En caso se realizó la evaluación hasta setiembre de 2023

COPYRIGHT ©
KATHERINE ESTHER VÁSQUEZ NÚÑEZ
Todos los derechos reservados

FICHA CATALOGRÁFICA

Vásquez K. 2024. **Perfil fitoquímico y actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**/Katherine Esther

Vásquez Núñez

Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología

Asesora: Dra. Blga. Carmen Eddy Medina Rodríguez

Co-Asesora: Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa

Disertación académica para obtener el título profesional de Biólogo Biotecnólogo – UNC

2024

**Perfil fitoquímico y actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de
Salvia lanicaulis Epling & Játiva frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y
Staphylococcus aureus ATCC 25923**

AUTORA: Bach. Katherine Esther Vásquez Núñez

ASESORA: Dra. Blga. Carmen Eddy Medina Rodríguez

CO-ASESORA: Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa

Tesis evaluada y aprobada para la obtención de Título Profesional de Biólogo
Biotecnólogo de la Universidad Nacional de Cajamarca por los siguientes jurados.

JURADO EVALUADOR



PRESIDENTE

Dr. Demetrio Cieza Yrigoín



SECRETARIO

M. Cs. Arturo Ulises Díaz Aliaga



VOCAL

M. Cs. William Edgardo Soriano Castillo

Cajamarca, 2024 - Perú



Universidad Nacional de Cajamarca

"Norte de la Universidad Peruana"

Fundada por Ley 14015 del 13 de Febrero de 1962

Facultad de Ciencias de la Salud

Av. Atahualpa 1050

Teléfono/ Fax 36-5845



MODALIDAD "A"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO

En Cajamarca, siendo las 5 pm del 05 de Setiembre del 2024, los integrantes del Jurado Evaluador para la revisión y sustentación de la tesis, designados en Consejo de Facultad a propuesta del Departamento Académico, reunidos en el ambiente ..1I-304.. de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Cajamarca, dan inicio a la sustentación de tesis denominada: Perfil fitoquímico y actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de Salvia lanceaull's Epling & Játiva frente a Escherichia coli ATCC 25922 y Staphylococcus aureus ATCC 25923

del (a) Bachiller en Ciencias Biológicas:

Katherine Esther Vásquez Núñez

Siendo las 5.35 pm del mismo día, se da por finalizado el proceso de evaluación, el Jurado Evaluador da su veredicto en los siguientes términos: Muy bueno, con el calificativo de: 18, con lo cual el (la) Bachiller en Ciencias Biológicas se encuentra apta para la obtención del Título Profesional de: **BIÓLOGO BIOTECNÓLOGO.**

Miembros Jurado Evaluador Nombres y Apellidos		Firma
Presidente:	<u>Demetrio Ceza Yrigoin</u>	<u>[Firma]</u>
Secretario(a):	<u>Arturo Ulises Díaz Aliaga</u>	<u>[Firma]</u>
Vocal:	<u>William Edgardo Soriano Castillo</u>	<u>[Firma]</u>
Accesitaria:		
Asesor (a):	<u>Carmen Eddy Medina Rodríguez</u>	<u>[Firma]</u>
Asesor (a):		

Términos de Calificación:

EXCELENTE (19-20)

REGULAR (12-13)

MUY BUENO (17-18)

REGULAR BAJO (11)

BUENO (14-16)

DESAPROBADO (10 a menos)

A:

Dios, quién supo guiarme, dándome sabiduría, fortaleza, paciencia y humildad en esta senda del conocimiento.

Mis padres Rosa Ítala y Adriano por su apoyo sincero y amor incondicional, porque creyeron en mí acompañándome en cada momento de mi formación, dirigiendo mis pasos hacia el bien.

Mis hermanos Alexander, Jaime y Juan por sus palabras de aliento, apoyo constante y cariño en esta etapa de mi vida.

Katherine Esther Vásquez Núñez

“La sabiduría es la hija de la experiencia”

Leonardo Da Vinci

(Polímata florentino del Renacimiento italiano)

Agradecimiento:

Agradezco a Dios, por darme vida y salud para lograr esta meta, por otorgarme la familia que tengo, por haber puesto a personas y amigos que de una u otra forma me brindaron su apoyo y compartieron sus conocimientos.

Agradezco a la Universidad Nacional de Cajamarca por abrirme las puertas y brindarme la oportunidad de avanzar en mi formación profesional.

Mi especial agradecimiento a mis asesoras la Dra. Blga. Carmen Eddy Medina Rodríguez y la Dra. Mblga. Claudia Carolina Rodríguez Ulloa por la orientación y ayuda que me brindaron para la realización de este trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Bacteriología y al Laboratorio de Análisis de Alimentos y Control de Calidad de la Universidad Nacional de Cajamarca, por haber contribuido algunos insumos.

Al Dr. Mblgo. Marco A. Rivera Jacinto por transmitirme sus conocimientos científicos y su apoyo en el análisis antibacteriano.

A la Mg. Q.F. Jéssica Nathalie Bardales Valdivia, por brindarme sus conocimientos sobre aceites esenciales, ya que me permitieron aprender mucho más que lo estudiado en el proyecto.

Al Ing. M. Sc. David R. Uriol Velarde y al Ing. Yoner A. Salas Pastor, por su apoyo en los análisis fisicoquímicos.

Finalmente, agradezco al Lic. Jorge Camacho por su apoyo y conocimiento para extraer aceites esenciales.

Tabla de contenido

Resumen.....	xv
Abstract.....	xvi
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II	3
MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes de la investigación	3
2.2. Bases teóricas	8
2.2.1. Características botánicas y ecológicas de <i>Salvia lanicaulis</i> Epling & Játiva..	8
2.2.2. Variedades y beneficios del género <i>Salvia</i> L	10
2.2.3. Aceites esenciales	11
2.2.4. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales	16
2.2.5. Métodos de extracción de aceites esenciales	17
2.2.6. Análisis de los aceites esenciales	20
2.2.7. Microorganismos en estudio.....	21
2.2.8. Métodos de evaluación de la actividad antibacteriana	24
CAPÍTULO III.....	27
DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS	27
3.1. Nivel de investigación.....	27
3.2. Tipo y diseño de estudio	27
3.3. Material biológico	27
3.4. Lugar de muestreo.....	27
3.5. Colección de la muestra vegetal.....	28
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	28
3.6.1. Acondicionamiento de la muestra vegetal.....	28
3.6.2. Destilación y almacenamiento del aceite esencial.....	28
3.6.3. Análisis sensorial, físico y químico del aceite esencial de <i>Salvia lanicaulis</i>	29
3.6.5. Evaluación de la actividad antibacteriana	31
3.7. Técnica de procesamiento y análisis de datos	34
CAPÍTULO IV	35

RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1. Resultados	35
4.1.1. Análisis sensorial, físico y químico del aceite esencial de <i>Salvia lanicaulis</i>	35
4.1.2. Análisis de cromatografía.....	35
4.1.3. Evaluación de la actividad antibacteriana	36
4.2. Discusión.....	38
CAPITULO V	43
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	43
5.1. Conclusiones	43
5.2. Recomendaciones.....	44
LISTA DE REFERENCIAS	45
APÉNDICES Y ANEXOS	55
APÉNDICES	55
Apéndice 1. Especie vegetal.	55
Apéndice 2. Acondicionamiento de las hojas de <i>Salvia lanicaulis</i> Epling & Játiva...	55
Apéndice 3. Destilación del aceite esencial de las hojas de <i>Salvia lanicaulis</i> Epling & Játiva.	56
Apéndice 4. Análisis sensorial, físico y químico del aceite esencial de las hojas de <i>Salvia lanicaulis</i>	57
Apéndice 5. Dilución del aceite esencial al 50% y 25% (v/v).	58
Apéndice 6. Reactivación de cepas.	59
Apéndice 7. Método de difusión en disco (Kirby Bauer).	60
Apéndice 8. Evaluación de la actividad antibacteriana del AE de <i>Salvia lanicaulis</i> Epling & Játiva frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	62
Apéndice 9. Evaluación de la actividad antibacteriana del AE de <i>Salvia lanicaulis</i> Epling & Játiva frente a <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.	63
Apéndice 10. Análisis estadísticos.....	64
ANEXOS	67
Anexo 1. Constancia de identificación taxonómica de la <i>Salvia lanicaulis</i> Epling & Játiva. Universidad Nacional de Cajamarca. Herbario CPUN “Isidoro Sánchez Vega”.	67
Anexo 2. Datos cromatográficos del aceite esencial de <i>Salvia lanicaulis</i> Epling & Játiva en estado fresco del análisis por Inyección Líquida.	68
Anexo 3. Resultado de composición del aceite esencial de las hojas de <i>Salvia lanicaulis</i> Epling & Játiva en estado fresco. Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ciencias. Informe Técnico N° 1418 – 23 – LABICER.	70

Lista de abreviaciones

AE: Aceite esencial

ATCC: American Type Culture Collection

NTP: Normas Técnica Peruanas

ISO: Organización Internacional de Normalización

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

GC-MS: Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas

Glosario

Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (GC-MS). - Es una técnica analítica dedicada a la separación, identificación y cuantificación de mezclas de sustancias volátiles y semivolátiles (1).

Perfil fitoquímico. - Es el estudio de compuestos químicos presentes en el aceite esencial característico de la especie, género y/o de la familia vegetal (2).

Terpenos. - Son el grupo más grande de componentes en los aceites esenciales (3).

**PERFIL FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE
ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva FRENTE A
Escherichia coli ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo principal determinar el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva frente a cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923. Se extrajo aceite esencial de hojas frescas de *Salvia lanicaulis* mediante arrastre de vapor de agua, posteriormente se caracterizaron sus propiedades organolépticas y fisicoquímicas, se determinó la composición química del aceite esencial mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y se evaluó la actividad antibacteriana utilizando el método de difusión en disco. El rendimiento del aceite esencial fue 0,03%, la caracterización mostró que el aceite tiene un color ámbar oscuro, un sabor levemente amargo y un aroma floral herbal ligeramente cítrico. En cuanto a su aspecto, es un líquido oleoso espeso. Se registraron los siguientes valores: índice de refracción de 1,507, índice acidez de 0,2805, pH de 5,28 y densidad de 0,925 g/mL. El análisis químico permitió la identificación de 61 compuestos, de los cuales cuatro constituyen la mayoría de la composición: Germacreno D (25,95 %), Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletenil)-4-(1-metiletilideno) -(21,44 %), Cariofileno (15,69 %), 2(10)-Pineno, (1S,5S)-(-) (9,90 %). La actividad antibacteriana del aceite esencial mostró inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mostrando sensibilidad a una concentración del 100 %; sin embargo, no se observó inhibición del crecimiento frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

Palabras clave: Aceite esencial, *Salvia lanicaulis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, actividad antibacteriana.

Abstract

The main objective of this study was to determine the phytochemical profile and evaluate the antibacterial activity of the essential oil of *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva leaves against strains of *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923. Essential oil was extracted from fresh leaves of *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva by water vapor entrainment, then its organoleptic and physicochemical properties were characterized, the chemical composition of the essential oil was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry, and the antibacterial activity was evaluated using the disk diffusion method. The yield of the essential oil was 0.03%, characterization showed that the oil has a dark amber color, a slightly bitter taste and a slightly citrusy herbal floral aroma. As for the appearance, it is a thick oily liquid. The following values were recorded: refractive index of 1.507, acid index of 0.2805, pH of 5.28, density of 0.925 g/ml. Chemical analysis allowed the identification of 61 compounds, of which four constitute the majority of the composition: Germacrene D (25.95 %), Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene) -(21.44 %), Caryophyllene (15.69 %), 2(10)-Pinene, (1S,5S)-(-) (9.90 %). The antibacterial activity of the essential oil showed growth inhibition of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, showing sensitivity at 100% concentration; however, no growth inhibition was observed against *Escherichia coli* ATCC 25922.

Key words: Essential oil, *Salvia lanicaulis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, antibacterial activity.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El Perú es uno de los países con mayor diversidad de plantas medicinales, las cuales han sido precursoras de la etnofarmacología, un amplio campo que aporta conocimiento sobre la medicina popular y abierto paso a la fitoterapia como un tratamiento suave y no agresivo basado en los principios activos de plantas medicinales (4). Estas plantas son consideradas como fármacos debido a su uso tradicional por la comunidades (5)(6). La región de Cajamarca cuenta con diversas especies vegetales nativas, como *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva, sobre la cual se han realizado estudios etnobotánicos a nivel descriptivo, sin embargo, no está estudiada a nivel fitoquímico (7).

Salvia lanicaulis Epling & Játiva pertenece al género *Salvia* L, el más extenso y cosmopolita de la familia Lamiaceae (8). Esta familia de plantas se caracteriza por contener una serie de compuestos con diversas disposiciones y funciones, como los aceites esenciales. Estos aceites han sido estudiados por sus propiedades antioxidantes, saborizantes, odoríferos o esencias de productos cosméticos, antivirales, antiinflamatorios, repelentes, larvicidas, pero sobre todo se han estudiado como agentes antibióticos, debido a la prevalencia de enfermedades infecciosas y a la aparición de patógenos resistentes a los tratamientos antimicrobianos (9)(10)(11)(12)(13).

Si bien microorganismos como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* pueden ser tanto benéficos como patógenos para el ser humano, al formar parte del microbioma resultan ser favorables y útiles, pero pueden alterarse y adquirir factores de virulencia, convirtiéndose en perjudiciales (14). Las infecciones por *E. coli* patógena se caracterizan

por originar cuadros diarreicos, presentando casi 1,700 millones de casos cada año a nivel mundial, y siendo la segunda causa de muerte en niños menores de 5 años (15). Además; se ha reportado como uno de los microorganismos más frecuentes causantes de infecciones del tracto urinario (16). Por otro lado, las infecciones causadas por *S. aureus* varían en gravedad, pueden causar desde infecciones cutáneas leves hasta neumonía necrosante grave. Simultáneamente; son la principal causa de bacteriemia, endocarditis infecciosa, infecciones osteoarticulares, de piel y tejidos blandos, pleuropulmonares y relacionadas con dispositivos (17).

Por lo antes mencionado, el presente estudio pretende determinar el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva, una especie vegetal propia de algunas áreas de la región de Cajamarca, lo cual representa una alternativa de uso que nos permite rescatar y revalorar nuestra diversidad biológica.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Ozkan *et al.* (18) en Turquía, estudiaron la composición química y la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Salvia pisidica*. Mediante el método de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS), identificaron los compuestos químicos del aceite esencial y, utilizando la técnica de difusión en agar, evaluaron la actividad antibacteriana frente a 13 cepas bacterianas, incluyendo *E. coli* y *S. aureus*. Para la técnica de difusión en agar, se utilizó 50 uL del aceite esencial a concentraciones de 0,2; 0,5; 1 y 2 g/100 mL en dimetilsulfóxido (DMSO), usando DMSO sin aceite esencial como control. Los resultados mostraron 31 compuestos principales del aceite esencial, destacando el alcanfor (23,76 %), sabinol (19,2%), α -tuyona (14,2%) y eucaliptol (1,8-cineol 1%) y se observó actividad antibacteriana a concentraciones de 2,0 g/100 mL del aceite esencial frente a todas las bacterias gram positivas evaluadas, sin embargo, no se evidenció efecto en bacterias gram negativas. Concluyendo que altas concentraciones de aceite esencial de *S. pisidica* mostraron actividad antibacteriana en bacterias gram positivas.

Moumni *et al.* (19) en Túnez, investigaron la composición química y el efecto antibacteriano de cinco aceites esenciales de la familia Lamiaceae. Utilizando la técnica de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS), encontraron que el aceite esencial de *Salvia officinalis* contenía un elevado porcentaje de α -tuyona (1,5 %). El ensayo antibacteriano se realizó mediante el método de difusión en disco, frente a tres bacterias gram negativas, incluyendo *E. coli* y dos bacterias gram positivas entre ellas *S.*

aureus. Para el ensayo se prepararon cultivos en caldo Mueller Hinton, luego ajustaron la densidad óptica según estándares de McFarland, en seguida impregnaron discos absorbentes con 10 uL de aceite esencial, y los colocaron sobre la superficie de placas de Petri inoculadas; como control positivo utilizaron el antibiótico estándar Gentamicina (10 ug/disco) y se utilizó el método de dilución en caldo para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (MIC) y mínimas bactericidas (MBC). Obteniéndose como resultados zonas de inhibición de 11,3 mm para *E. coli* y 8,3 mm para *S. aureus*, la CMI y CMB fue de 22,78 y 45,55 mg/mL, respectivamente. Concluyendo que la actividad antibacteriana de los aceites esenciales varió significativamente tanto entre las especies y como entre las cepas bacterianas.

Shanaida *et al.* (20) en Ucrania, determinaron los perfiles cromatográficos y la actividad antibacteriana de los aceites esenciales obtenidos de algunas especies y cultivares de la tribu Lamiaceae. Mediante el método de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS) encontraron que el aceite esencial de *Salvia sclerea* L. contenía acetato de linalilo (45,51 %) y el linalol (38,98 %) como componentes mayoritarios. La actividad antibacteriana se evaluó mediante el método de difusión en agar frente a cepas patógenas incluyendo *S. aureus* y *E. coli*, obteniéndose como resultado zonas de inhibición de 30 mm, 19 mm para cepas clínicas y de referencia de *S. aureus* y *E. coli* respectivamente. Concluyeron que el aceite esencial de *S. sclerea* muestra compuestos con actividad antibacteriana prometedores.

Así mismo, Blanco *et al.* en España (11), evaluaron los componentes químicos del aceite esencial de *Salvia sclarea* L. mediante el mismo método, encontrando como componentes mayoritarios al acetato de linalilo (37,3 %), linalol (30,6 %), aterpineol (8,9

%), germacreno D (5,8 %). Concluyendo que los resultados obtenidos por otros autores, al utilizar la misma especie, pero de procedencia diferente, guarda similitudes significativas en la composición química.

Santana y Cabrera (21) en España, estudiaron el perfil químico y biológico de aceites esenciales de plantas aromáticas. Determinaron la composición química de los aceites esenciales mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, identificando la presencia de 61 compuestos, de los cuales 23 presentaron un porcentaje mayor o igual al 1 %. Los aceites esenciales de *Salvia* spp. se caracterizaron por presentar un alto contenido de 1,8 cineol (16-23 %) y, en el caso específico de *S. officinalis*, una elevada proporción de α -tuyona (15,7 %). Concluyendo que la composición química mayoritaria de los aceites esenciales de las especies estudiadas perteneció a diferentes clases químicas: monoterpenos oxigenados (1,8 cineol, linalol, alcanfor y α -tuyona), monoterpenos hidrocarbonados (α -pineno, β -pineno y p-cimeno), ésteres monoterpénicos (acetato de linalilo) y sesquiterpenos (trans-cariofileno).

En Sudáfrica, Nájjar *et al.* (22), estudiaron la actividad antifúngica, antiviral y antibacteriana de especies de *Salvia* spp. Analizaron la composición química *S. dentata* Aiton y *S. scabra* Thunb mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. La actividad antibacteriana la realizaron mediante la técnica de Kirby-Bauer, frente a cepas de *E. coli*, *S. aureus* y *S. pseudointermedius* previamente aisladas infecciones. Los resultados mostraron que los aceites esenciales de las hojas, de *Salvia scabra*, se caracterizaron por un alto porcentaje de hidrocarburos sesquiterpénicos, representados mayoritariamente por una cantidad igual de germacreno D (32,8%), en cambio para *S. dentata* mostró prevalencia de monoterpenos. los aceites

esenciales estudiados no fueron activos frente a *E. coli* y *S. aureus*, pero se observó una baja inhibición del aceite esencial de *S. dentata* frente a *S. pseudointermedius*. Concluyendo que el aceite esencial de *S. dentata* mostró una actividad de regular a buena en los patógenos probados, ofreciendo nuevas e interesantes perspectivas para usos medicinales e industriales.

Tundis *et al.* (23) en Italia, analizaron el perfil químico del aceite esencial de tres poblaciones de *Salvia officinalis* L., recolectadas en tres lugares diferentes de Italia. Las extracciones de los aceites esenciales se realizaron mediante hidrodestilación, y los compuestos químicos mediante cromatografía de gases y espectrofotometría de masas. Se identificaron cuarenta y cinco compuestos, que representaron el 96,30%, 97,56 % y 96,69 % de la composición total de las tres poblaciones, respectivamente. Los constituyentes más abundantes fueron: alcanfor (16,16–18,92 %), 1,8-cineol (8,80–9,86 %), β -pineno (3,08–9,14 %), canfeno (6,27–8,08 %) y α -tuyona (1,17–9,26 %). Concluyendo que los análisis cualitativos como cuantitativos de los aceites esenciales de *S. officinalis* de tres lugares diferentes, la presencia de monoterpenos oxigenados como clase dominante.

Lanza *et al.* (24) en Venezuela, estudiaron el aceite esencial obtenido a partir de las hojas de *Salvia occidentalis* Sw. (Lamiaceae), empleando la técnica de arrastre con vapor. El aceite obtenido era de color amarillo claro y de olor agradable. Mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG/EM), se determinaron que el aceite esencial presentaba una mezcla de compuestos terpenoidales, siendo el β -elemeno (20,35 %) era el componente mayoritario. Concluyeron que la composición química del aceite esencial de *S. occidentalis*, se encuentra dentro de los terpenos siendo el β -elemeno el

constituyente principal de la esencia, representando una alternativa en las medidas terapéuticas para el tratamiento de las células cancerígenas.

En el Perú, Márquez (25), extrajo y caracterizó los compuestos activos del aceite esencial de *Salvia rhodostephana* (Epling.). Su objetivo fue identificar la presencia de compuestos volátiles y compuestos bioactivos del aceite esencial de *Salvia rhodostephana* (Epling.). Los componentes se determinaron mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-EM), identificándose los siguientes componentes: β -pineno (2,24 %), sabineno (0,66 %), δ -3-careno (69,47 %), mentona (5,50 %), β -cariofileno (9,89 %). Concluyeron que el perfil de los compuestos volátiles obtenidos por el método de CG-EM, mostró 20 componentes en el cual se observó un alto contenido de δ -3-careno, componente que según la literatura posee actividad antibacteriana.

Así mismo, Quispe y Tenorio (13), investigaron la composición fitoquímica y la actividad antibacteriana del aceite esencial de los órganos aéreos de *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling “pacha salvia”, miembro de la familia Lamiaceae. Empleando un cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG-SM), identificaron 31 componentes, siendo los compuestos mayoritarios α -pineno (21,37 %), eucaliptol (1,8-cineol = 18,80 %), D-limoneno (15,43 %). Estos compuestos demostraron actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, comparable con la gentamicina de 10 μ g. Concluyendo que el aceite esencial de los órganos aéreos de *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling “pacha salvia” poseen componentes activos con actividad antibacteriana.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Características botánicas y ecológicas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva.

La planta salvia (*Salvia lanicaulis* Epling & Játiva), es un arbusto de 1-1,5 m de altura, flores color magenta de 3,5 cm de largo y base blanca, sus anteras y estigmas que sobresalen 1 cm del cáliz magenta mate, con inducción glandular de 1mm de largo, y el envés de la hoja con indumento blanco, suave y lanudo. Esta especie se adapta a hábitats situados aproximadamente entre 3700- 3800 msnm (Fig1) (26).

S. lanicaulis es una especie arbustiva conocida en varias localidades de la región mesoandina y paramuna del norte del país. Habita en matorrales ubicados en laderas rocosas y suelos calizos, con poblaciones locales considerablemente densas (7)(27). Taxonómicamente, pertenece a la familia Lamiaceae, una de las más abundantes y cosmopolitas, pertenecientes al género *Salvia* L (Tabla 1) (26). Esta especie está parcialmente distribuida en el norte del país, encontrándose generalmente en las zonas altas de la región de Cajamarca y tiene como denominación común “chochocón blanco, monte blanco, salvia”.



Fig.1. *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva encontrada en “Field Museum of Natural History”(26).

Tabla 1. Taxonomía de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva (26).

<i>Salvia lanicaulis</i>	
Reino	Plantae
División	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Sub clase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Género	<i>Salvia</i>
Especie	<i>Salvia lanicaulis</i> Epling & Játiva

2.2.2. Variedades y beneficios del género *Salvia* L

El género *Salvia* L, el más diverso de la familia *Lamiaceae*, actualmente cuenta con unas 1346 especies reconocidas (28). Se le han atribuido numerosas propiedades, tales como antiséptico, antiinflamatorios para la cavidad bucofaríngea, y para tratar síntomas de trastornos digestivos como la flatulencia y dispepsias. Además, se ha reportado su uso como antidiafórico, debido a su acción paliativa sobre la sudoración extrema, un efecto observado en pacientes tuberculosos (29).

A continuación, se nombran algunas especies del género *Salvia* L que se caracterizan por tener propiedades de interés y que han logrado convertirse en plantas muy demandadas por las industrias farmacéutica y cosmética.

Salvia officinalis

El aceite esencial se caracteriza por poseer acción antibacteriana, antifúngica, antiviral a causa de los compuestos diterpénicos, también presenta actividad antiinflamatoria a causa del ácido rasmanílico; así mismo posee acción astringente, interviniendo como estimulante de las secreciones y antitranspirante (30).

Salvia sclarea

Es conocida como salvia, desempeña un papel fundamental en la medicina herbaria y la industria de los aceites esenciales (31). La medicina tradicional a usado esta planta para tratar artritis, inflamaciones bucales, problemas del sistema digestivo, también se ha demostrado eficacia antifotoenvejecimiento *in vitro*; contiene componentes como el esclareol, el cual actualmente se ha considerado como un candidato de interés contra el COVID-19 y la enfermedad de Parkinson (32).

Salvia lavandulaefolia

También llamada salvia española, su aceite esencial está constituido principalmente por 1,8- cineol y alcanfor (33), no contiene toyunas, sus aceites se utilizan en la composición de perfumes, fabricación de jabones de tocador y en cosmética (34).

2.2.3. Aceites esenciales

Los aceites esenciales, aceites volátiles o simplemente esencias, son sustancias aromáticas naturales responsables de las fragancias de las flores y otros órganos vegetales (35). Estos compuestos se encuentran distribuidos en plantas superiores y los géneros capaces de producir los constituyentes que componen los aceites esenciales están repartidos en un número limitado de familias, tales como: Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae (36).

Los aceites esenciales pueden almacenarse en todos los órganos vegetales: en las flores, igualmente en hojas y, aunque sea menos habitual, en cortezas, leños, raíces, rizomas, frutos, semillas (36). Las plantas aromáticas pertenecientes a las lamiáceas, generalmente se caracterizan por tener la mejor concentración de aceites esenciales y una compleja composición química; sin embargo, hay que tomar en cuenta que estos aceites varían de acuerdo a la especie y al hábitat en el que residen (29).

2.2.3.1. Características de los aceites esenciales (37)

Los aceites esenciales se clasifican en base en los siguientes criterios: Consistencia, origen, o naturaleza química de los componentes mayoritarios.

Por su consistencia los aceites esenciales son líquidos muy volátiles a temperatura ambiente, pueden presentarse de distintas maneras (37).

- Los Bálsamos. Son de consistencia más espesa, poco volátiles, contienen principalmente sesquiterpenoides y son propensos a polimerizarse (bálsamos de Copaiba, bálsamo de Perú, bálsamo de Tolú) (37).
- Las Oleorresinas. Tienen el aroma de las plantas en forma concentrada, son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho, gutapercha, chicle, oleorresinas de paprica, de pimienta negra, de clavero). Contienen los aceites esenciales, los aceites fijos, los colorantes y los principios activos de la planta (37).

Por su origen los aceites esenciales se clasifican en: Naturales, Artificiales, o Sintéticos.

- Aceites Esenciales Naturales: Se obtienen directamente de la planta y no se someten posteriormente a ninguna modificación fisicoquímica, son costosos y de composición variada (37).
- Artificiales: Se obtienen por enriquecimiento de esencias naturales con uno de sus componentes; también se preparan por mezclas de varias esencias naturales extraídas de distintas plantas (37).
- Sintéticos: Son mezclas de diversos productos obtenidos por procesos químicos, son más económicos y por lo tanto se utilizan mucho en la preparación de sustancias aromatizantes y saborizantes (37).

Por la naturaleza química los aceites esenciales se dividen en tres grupos principales (37):

- Monoterpenoides (linalool, nerol, 1-8 cineol, geraniol)
- Sesquiterpenoides (farnesol, nerolidol)
- Compuestos oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas)

La composición química principal de los aceites esenciales son los terpenos de bajo y medio peso molecular como los monoterpenos, los sesquiterpenos y, en menor medida, los diterpenos. Los monoterpenos son las moléculas más abundantes, las cuales pueden llegar a representar hasta el 90% del aceite (38).

2.2.3.2. Composición química

Los aceites esenciales son mezclas complejas y muy variables de constituyentes que pertenecen, de manera casi exclusiva, a dos grupos caracterizados por orígenes biogénicos distintos: el grupo de los terpenoides por una parte y el grupo de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano, mucho menos frecuentes. Pueden también contener diversos productos procedentes de procesos de degradación que afectan a constituyentes no volátiles (36).

A. Terpenoides

En los aceites esenciales se encontrarán únicamente los terpenos más volátiles, aquellos cuya masa molecular no es demasiado elevada: mono- y sesquiterpenos. Se ha visto que la alta reactividad de las especies catiónicas intermediarias explica la variedad estructural: describiendo varios millares de compuestos en estas dos series (36).

A.1. Monoterpenos. Casi siempre se encuentran hidrocarburos. Estos pueden ser acíclicos (mirceno, ocimenos), monocíclicos (α - y γ -terpineno, p-cimeno) o bicíclicos

(pínenos, α -careno, canfeno, sabineno). A veces constituyen más del 90 % del aceite esencial (36).

- **Alcoholes:** acíclicos (geraniol, linalol, citronelol), monocíclicos (mentol, α -terpineol, 1-terpinen-4-ol), bicíclicos (borneol, fenchol).
- **Aldehídos:** generalmente acíclicos (geranial, neral, citronelal).
- **Cetonas:** acíclicas (tagetona), monocíclicas (mentona, isomentona, carvona, pulegona), bicíclicas (alcanfor, fenchona, tuyonas).
- **Ésteres:** acíclicos (acetato o propionato de linalilo, acetato de citronelilo), monocíclicos (acetato de mentilo, acetato de α -terpinilo), bicíclicos (acetato de isobornilo).
- **Éteres:** 1,8-cineol (llamado también eucaliptol), dill-éter, igualmente éteres cí-clicos, tetrahidrofuránicos o di- y tetrahidropiránicos que, para algunos, juegan un papel principal en el aroma de los frutos (óxidos de linalol, óxidos de rosa).
- **Peróxidos:** ascaridol
- **Fenoles:** timol, carvacrol

A.2. Sesquiterpenos: Los más característicos de aceites esenciales: hidrocarburos mono o policíclicos (β -bisaboleno, β -cariofileno, longifoleno), alcoholes (farnesol, carotol, 3-santalol, patchulol), cetonas (nootkatona, cis-longipinano-2,7-diona, β -vetivona), aldehídos (sinensales), ésteres (acetato de cedrilo) (36).

B. Compuestos aromáticos

Los derivados del fenilpropano (C₆-C₃) son mucho menos frecuentes que los sesquiterpenos. Igualmente se pueden encontrar en los aceites esenciales compuestos en

C6-C1 como la vainillina (bastante frecuente) o como el antranilato de metilo. Las lactonas derivadas de los ácidos cinámicos (*i.e.* las cumarinas) al ser, al menos las más sencillas de ellas, arrastrables por corriente de vapor de agua, se encontrarán en algunos aceites esenciales (36).

2.2.3.3. Propiedades físicas

Los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente, volátiles, lo que les diferencia de los aceites «fijos», muy raramente son coloreados. En general, su densidad es inferior a la del agua. Poseen un índice de refracción elevado y la mayoría desvían la luz polarizada. Son liposolubles y solubles en los disolventes orgánicos habituales. Arrastrables en vapor de agua, son muy poco solubles en ella (36).

2.2.3.4. Deterioro al que está expuesto los aceites esenciales

Los aceites esenciales, así como otros productos son susceptibles al deterioro cuando entran en contacto con sustancias gaseosas, radiación, y otros agentes; lo que provoca cambios fisiológicos y estructurales inmediatos en el compuesto. Según estudios, cuando los aceites esenciales entran en contacto con el aire, se oxidan, solidifican y resinifican, perdiendo su aroma característico (37).

De igual manera, estos aceites se alteran fácilmente bajo la acción de la luz, volviéndose amarillos y oscuros, modificándose asimismo su perfume. Según un estudio “la acción del aire sobre estas sustancias, se debe a la transformación de los terpenos por lo que se busca eliminarlos por distintos procedimientos, para obtener esencias desterpenadas cuya solubilidad e inalterabilidad son mucho mayores”(37).

2.2.4. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales

La humanidad ha utilizado las plantas durante miles de años para tratar diversas dolencias, incluidas las infecciones bacterianas. Muchos de los usos medicinales de nuestros antepasados han sido científicamente corroborados mediante técnicas modernas, que han permitido la identificación de compuestos activos y la caracterización de su mecanismo de acción antibacteriano (39).

Algunos estudios han demostrado que el principal mecanismo de acción antibacteriano en los aceites esenciales está relacionado con el aumento de la permeabilidad y la posterior ruptura de la membrana plasmática. Destacando que la actividad antibacteriana de los aceites esenciales se atribuye en gran medida a su contenido de terpenos. No obstante, el mecanismo de acción de los terpenos suele estar relacionado con su interacción con las membranas, los mecanismos específicos aún no se comprenden en su totalidad (40). Los mecanismos moleculares específicos de acción de los diferentes terpenos varían y dependen fundamentalmente de su estructura química.

Por ejemplo, terpenos como el carvacrol, que tienen un grupo OH fenólico, pueden atravesar la membrana plasmática bacteriana y pueden unirse a moléculas como ATP o cationes monovalentes como K^+ , transportándolos fuera de la célula bacteriana, afectando gravemente el potencial de membrana y la homeostasis (39). Además, el grupo hidroxilo puede unirse e inhibir proteínas como la ATPasa (41). Otros terpenos, como el timol, pueden incorporarse a la región del grupo de cabeza polar de la bicapa lipídica, afectando la integridad estructural y la fluidez de la membrana (42). Además, se ha demostrado que el timol se une a las proteínas de la membrana y del espacio

periplásmico mediante enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, lo que ralentiza la respuesta bacteriana a su actividad antibacteriana (43).

Terpenos como el cinamaldehído han demostrado la capacidad de modificar el perfil lipídico de la membrana plasmática bacteriana, induciendo un aumento en la presencia de ácidos grasos saturados, lo que resulta en un aumento de la rigidez, probablemente desencadenada en respuesta a la acción fluidificante del terpeno (44). Este fenómeno desencadena la despolarización de la membrana, la pérdida de la integridad de la membrana, la reducción de la actividad respiratoria y la coagulación del material citoplasmático (39).

2.2.5. Métodos de extracción de aceites esenciales

Los métodos existentes para extraer aceites esenciales de las muestras vegetales son: destilación con vapor de agua, expresión, extracción con solventes volátiles, enfleurage y con fluidos supercríticos (38).

2.2.5.1. Destilación por arrastre de vapor de agua

Se puede definir la destilación por arrastre con vapor, como la separación de dos o más sustancias, basada en las diferencias existentes entre sus presiones de vapor. Dichas sustancias pueden ser total o parcialmente miscibles. La mezcla de gases ideales sigue la ley de Dalton, según ella, cuando dos o más gases o vapores, que no reaccionan entre sí, se mezclan a temperatura constante, cada gas ejerce la misma presión como si estuviera sólo y la suma de las presiones de cada uno de ellos es igual a la presión total del sistema (45).

La muestra vegetal generalmente fresca y cortada en trozos pequeños, se coloca en un recipiente cerrado y sometida a una corriente de vapor de agua, la esencia así arrastrada es posteriormente condensada, recolectada y separada de la fracción acuosa. Esta técnica es muy utilizada especialmente para esencias muy volátiles, por ejemplo, las utilizadas para perfumería. Se utiliza a nivel industrial debido a su alto rendimiento, a la pureza del aceite obtenido y porque no requiere tecnología sofisticada (46).

Destilación por arrastre con vapor de agua o extracción por arrastre, hidrodestilación, hidrodifusión o hidroextracción, a todos estos procesos generalmente se los denomina “destilación por arrastre de vapor”, sin embargo, no existe un nombre claro y conciso para definirlo, debido a que se desconoce exactamente lo que sucede en el interior del equipo principal y porque se usan diferentes condiciones del vapor de agua para el proceso. Cuando se usa vapor saturado o sobrecalentado, fuera del equipo principal es llamado “destilación por arrastre de vapor” (47).

Cuando se usa vapor saturado, pero la materia prima está en contacto íntimo con el agua generadora del vapor, se le llama “hidrodestilación”(47). Cuando se usa vapor saturado, pero la materia no está en contacto con el agua generadora, sino con un reflujo del condensado formado en el interior del destilador y se asumía que el agua era un agente extractor, se le denominó “hidroextracción”(48).

2.2.5.2. Extracción por expresión

En este proceso el material vegetal es exprimido para liberar el aceite esencial, el cual es recolectado y filtrado. Este método es utilizado para el caso de esencias de cítricos (38).

2.2.5.3. Extracción con solventes volátiles

Se utiliza a escala de laboratorio, pues a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los solventes, porque se obtienen esencias impurificadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos solventes orgánicos volátiles (49).

2.2.5.4. Enflorado o enfluerage

Para realizar esta técnica, el material vegetal (generalmente flores) es puesto en contacto con un aceite vegetal. La esencia es solubilizada en el aceite vegetal que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla de aceite esencial y aceite vegetal la cual es separada posteriormente por otros medios físico-químicos. Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa (38).

2.2.5.5. Extracción con fluidos supercríticos

Para esta técnica, el material vegetal es previamente cortado en trozos pequeños, licuado o molido, luego empacado en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un líquido supercrítico (por ejemplo, bióxido de carbono líquido), las esencias son así solubilizadas y arrastradas y el líquido supercrítico que actúa como solvente extractor y se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente, y finalmente se obtiene una esencia pura (38).

Aunque presenta varias ventajas como alto rendimiento, ecológicamente compatible, el solvente se elimina fácilmente e inclusive se puede reciclar, y las bajas temperaturas utilizadas para la extracción no cambian químicamente los componentes de la esencia.

Sin embargo, el equipo requerido es relativamente costoso, ya que se requieren bombas de alta presión y sistemas de extracción también resistentes a las altas presiones (50).

2.2.6. Análisis de los aceites esenciales

El análisis de aceites esenciales posee varios parámetros a evaluar, entre los más importantes se encuentran: Determinación de la densidad, índice de refracción, índice de acidez, composición de compuestos activos caracterizados por medio de cromatografía gaseosa para identificar y cuantificar los principales componentes (25).

Para el análisis de los aceites esenciales, se han utilizado las técnicas de cromatografía de gases y espectrometría de masa, ya que; han resultado ser los análisis más eficientes hasta el momento (25).

Cromatografía de gases (CG):

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), define a la cromatografía como “método físico de separación en el que los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales es estacionaria (fase estacionaria), mientras que la otra (la fase móvil), se mueve en una dirección definida” (51). Es la técnica más utilizada con el gas inerte (generalmente He). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fijada en una columna. Actualmente, las más empleadas son las columnas capilares (52).

Espectrometría de masas (EM)

Es una de las técnicas que nos permite obtener la estructura de una muestra (53). Actualmente no sólo se utiliza en investigación, sino también en análisis cuantitativo de

amplia utilización para la determinación orgánica, en los procesos industriales, en control de calidad (54).

Índice de Refracción:

Mide el grado de cambio de dirección y velocidad de la luz al pasar desde un medio a otro (55). También disminuye con el aumento de la temperatura y esta intrínsecamente relacionado con la densidad de una sustancia (56). En los aceites esenciales los índices de refracción encontrados se hallan dentro de un rango común de 1,4741-1,4744 (57).

Índice de Acidez:

Determina el número de mg de hidróxido de potasio (KOH) necesarios para neutralizar los ácidos libres presentes en 1 g de aceite esencial (58). Este indicador es importante, dado que la mayoría de procesos de degradación de los aceite esencial son catalizados por medios acuosos ácidos, en donde ocurren la hidratación, deshidratación, ciclaciones y fundamentalmente hidrólisis (59).

2.2.7. Microorganismos en estudio

2.2.7.1. *Staphylococcus aureus*

Es un coco gram positivo, aerobio o anaerobio, inmóvil, con actividad catalasa y coagulasa, generalmente se dispone en racimos irregulares semejantes a los de uvas, crecen con rapidez sobre muchos tipos de medios metabólicamente activos, fermentan carbohidratos y producen pigmentos que varían desde el color blanco hasta el amarillo intenso. Miden aproximadamente 1µm de diámetro en grupos, están desprovistos de motilidad y no forman esporas (60).

El género *Staphylococcus* contiene al menos quince especies, las tres de importancia clínica son *S. aureus*, *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* también se asocian con enfermedades humanas (Tabla 2). Algunos son miembros de la microbiota cutánea y mucosas en los seres humanos, aunque ocasionalmente pueden provocar infecciones piógenas e incluso septicemia, con consecuencias mortales. Es común que casi todas las personas presenten alguna infección por *S. aureus* durante su vida, que varía en gravedad desde intoxicaciones alimentarias o infecciones cutáneas menores hasta infecciones graves potencialmente mortales. Los estafilococos coagulasa negativos a veces causan infecciones en el aparato digestivo ya que los alimentos contaminados contienen toxinas produciendo intoxicaciones alimentarias en pocas horas. Estos patógenos suelen provocar hemólisis, coagulación del plasma y producir varias enzimas y toxinas extracelulares (60).

Los hospitales realizan esfuerzos considerables para prevenir la transmisión directa a través del personal y el entorno. Sin embargo, a pesar de las buenas prácticas de control de infecciones, la transmisión persiste. Se ha implicado a los trabajadores de la salud colonizados como fuentes de transmisión en brotes, aunque el uso de los servicios de salud, el cribado de los trabajadores y la erradicación de *S. aureus* como medidas de control de rutina son temas controvertidos (60).

Tabla 2. Clasificación taxonómica de *Staphylococcus aureus* (61).

<i>Staphylococcus aureus</i>	
Dominio	Bacteria
Filo	Firmicutes
Clase	Bacilli
Familia	Staphylococcaceae
Género	<i>Staphylococcus</i>
Especie	<i>Staphylococcus aureus</i>

2.2.7.2. *Escherichia coli*

Es un bacilo gram negativo, de la familia *Enterobacteriaceae*, aerobio y anaerobio facultativo, con forma de barra y dimensiones aproximadas de 1-3 µm de largo por 0,5 µm de ancho, a menudo con flagelos que le confieren movilidad (Tabla 3). Puede presentarse de manera individual, en pares, en cadenas cortas o en grupos. Aunque en general son móviles, existen variantes inmóviles que carecen de flagelos. No forma esporas y suele carecer de cápsula. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C, es inactivado a 60°C, pero posee propiedades de desarrollo en una gama bastante amplia de temperaturas; el pH favorable es 7. Es capaz de fermentar glucosa, lactosa y un gran número de carbohidratos con producción de ácido y gas, en agar forma colonias circulares de 3 a 5 mm convexas, de borde continuo o un tanto ondulado, brillantes y de coloración blanca con tintes amarillentos. En determinados medios, produce H₂S (sulfuro de hidrogeno) y acidifica y coagula la leche (62).

E. coli es parte de la microbiota intestinal de humanos y otros animales. La mayoría de las cepas de este microorganismo se consideran inofensivas para los seres humanos. Sin embargo, ciertos patotipos de *E. coli* pueden adquirir factores de virulencia y causar enfermedades intestinales graves. Se reconocen varios patotipos de *E. coli* responsables

de las cinco principales enfermedades diarreicas transmitidas por alimentos: *E. coli* enteropatógena, que afecta la mucosa intestinal; *E. coli* enteroinvasiva, que afecta la mucosa del colon; *E. coli* enterohemorrágica, que causa colitis hemorrágica; *E. coli* enteroagregativa, caracterizada por causar diarrea con moco y sangre; y *E. coli* enterotoxigénica, común en países en desarrollo y áreas semitropicales, como América Latina, el Caribe, el sur de Asia y África, siendo una de las principales causas de la diarrea del viajero y la diarrea infantil. (15) (62).

Las infecciones entéricas causadas por este microorganismo no son atribuibles a las cepas que normalmente habitan el intestino, sino a cepas especialmente patógenas que se transmiten por vía fecal-oral de persona a persona o a través del agua o alimentos contaminados (63).

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *Escherichia coli* (64).

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

2.2.8. Métodos de evaluación de la actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana es aquella capaz de alterar y penetrar en la estructura lipídica de la membrana celular del microorganismo, lo que conduce a la desnaturalización de las proteínas y posterior destrucción de la membrana celular, haciéndola más permeable, lo

que lleva a la ruptura o fuga del material del citoplasma, lisis celular y, por ende, a la muerte microbiana (65).

Los componentes químicos que poseen los extractos vegetales pueden llegar a presentar esta actividad y para determinarla se llevan a cabo diferentes métodos como Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) tanto en fase vapor como por contacto directo, se evalúa la eficacia antimicrobiana y el espectro antimicrobiano (65). En la prueba de susceptibilidad antimicrobiana se realiza una cuantificación de la actividad *in vitro* de los antimicrobianos donde, se evalúa por los métodos de difusión en agar en pozos o en discos (66).

2.2.8.1. Método de difusión en disco (Kirby bauer)

Método para medir la susceptibilidad a los antimicrobianos, fue estandarizado por primera vez en 1966 por Bauer *et al.* (67). Este método es simple, reproducible y confiable; y el costo de suministros y materiales es bajo. Además, la difusión por disco de Kirby-Bauer proporciona al laboratorio gran flexibilidad; ya que se puede crear diferentes “paneles” que respondan al formulario del hospital, las tendencias de resistencia local y el antibiograma. Además, cuando se aprueban nuevos antimicrobianos para uso clínico, la difusión en disco suele ser el primer tipo de método de susceptibilidad que se autoriza y está disponible para que lo utilicen los laboratorios clínicos (68).

2.2.8.2. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Es la concentración mínima del agente antibacteriano que impide la propagación y el crecimiento visible de una cepa bacteriana determinada en el sistema de prueba. Se incuba una cantidad conocida de bacterias con diluciones definidas del agente antibacteriano

para determinar la concentración en el laboratorio (69). La CMI se ha establecido como el estándar de oro frente a otras técnicas para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana; además de confirmar resistencias inusuales, proporciona respuestas definitivas cuando los resultados de otras técnicas son inciertos (70).

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE LA HIPÓTESIS

3.1. Nivel de investigación

El presente estudio es de nivel descriptivo.

3.2. Tipo y diseño de estudio

Tipo básico, de diseño cuasi-experimental.

3.3. Material biológico

Hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva

Se recolectaron hojas frescas de *Salvia lanicaulis*, que no presentaban daños mecánicos o biológicos (Apéndice 1).

Cepas de Referencia de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923.

Se trabajó con cepas bacterianas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 de la marca Thermo Scientific™.

3.4. Lugar de muestreo

Las hojas de *Salvia lanicaulis* se recolectaron en el Centro poblado Perlamayo Tres Lagunas, distrito de Chugur, provincia de Hualgayoc, departamento de Cajamarca, ubicado a 3441 msnm, latitud de 6° 39' 52.9" S y longitud de 78° 41' 9" W.

3.5. Colección de la muestra vegetal

Se recolectaron 10 kg de hojas de *Salvia lanicaulis*, las cuales se trasladaron para su caracterización taxonómica al Herbario CPUN “Isidoro Sánchez Vega” de la Universidad Nacional de Cajamarca (Anexo 1). La recolección de la especie vegetal se realizó en la mañana y se transportaron en bolsas de papel para asegurar su conservación.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.6.1. Acondicionamiento de la muestra vegetal

Después de recolectar las hojas, se lavaron con agua potable para eliminar la tierra y la suciedad que pudieran contener, tratando las hojas con cuidado para no alterar las concentraciones del aceite esencial. Luego, se colocaron y extendieron las hojas sobre papel Kraft a temperatura ambiente para reducir el contenido del agua residual (Apéndice 2). A continuación, se fragmentaron ligeramente a mano, evitando utilizar instrumentos metálicos (tijeras, cuchillos, picadora) debido a que la fricción puede provocar la liberación de componentes volátiles, lo cual podría disminuir el rendimiento del principio activo por volatilización.

3.6.2. Destilación y almacenamiento del aceite esencial

Para la destilación, se utilizaron 10 kg de hojas frescas ligeramente fragmentadas, empleando el método por arrastre de vapor de agua (Apéndice 3). La muestra se colocó en un alambique de acero inoxidable y se acoplaron los componentes necesarios. La destilación se llevó a cabo durante 4 horas, posterior a ello se separó el aceite esencial de la fracción acuosa (hidrolato). El aceite esencial se almacenó en un envase de vidrio color ámbar y se guardó en refrigeración a 4°C hasta su posterior uso.

3.6.3. Análisis sensorial, físico y químico del aceite esencial de *Salvia lanicaulis*

Análisis organoléptico

Se analizaron el color, sabor, aroma y aspecto del aceite esencial mediante uno o más órganos de los sentidos humanos. El aceite esencial se colocó en un beaker, donde se observó su color; luego se acercó ligeramente el envase y se realizaron movimientos ondulantes para liberar su olor característico. A continuación, con ayuda de una varilla de vidrio, se agitó suavemente para determinar su aspecto; por último, se probó una pequeña muestra del aceite esencial para evaluar su sabor.

Determinación del rendimiento de extracción (71)

$$\text{Fórmula: } RAE = \frac{M1}{M2} \times 100 \%$$

Dónde:

M1: es el peso final del aceite esencial (g)

M2: es el peso inicial de la materia vegetal (g)

100: es el factor matemático (%)

Determinación de la densidad

La densidad se determinó gravimétricamente adaptando la técnica de la luna de reloj. Para ello se utilizó un vial de 3mL, una balanza analítica y una micropipeta de 100μL. A continuación, se dividió la masa del aceite esencial entre el volumen de aceite obtenido (g/cm³) usando la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{m}{v}$$

Dónde:

ρ: densidad

m: masa

v: volumen

Determinación de pH. – Se utilizó un potenciómetro calibrado, el electrodo o sensor se introdujo directamente en el aceite esencial obtenido y se esperó unos segundos hasta que los valores en la pantalla se estabilicen.

Determinación del Índice de Refracción

De acuerdo a la Norma Técnica Peruana NTP ISO 280:2011 se determinó el índice de refracción del aceite esencial de la *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva (72).

Se midió en un refractómetro, utilizando un líquido de pureza o índice refracción conocidos, para ello se utilizó agua destilada.

Índice de acidez

Se adaptó la NTP. N°319.085 (73), para determinar el índice de acidez del aceite esencial. Para ello, se preparó una solución de KOH 0,1 N y una solución alcohólica de Fenolftaleína al 1 %. Las cantidades se ajustaron a microlitros, utilizando 10uL de aceite esencial, 600uL de etanol de 96% y 1,5uL de Fenolftaleína. La mezcla se agitó y se valoró con la solución de KOH 0,1 N, con una micropipeta se agregó 0,1uL de KOH hasta que apareció una coloración ligeramente rosada. Se anotaron los microlitros gastados y efectuaron los cálculos mediante la siguiente fórmula:

$$IA = \frac{5,61x V}{P}$$

Donde:

P: Peso en gr de la muestra ensayada

V: Volumen en ml de KOH en la titulación

3.6.4. Análisis de cromatografía

La identificación y cuantificación de los componentes del aceite esencial de *Salvia lanicaulis* se realizó por Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas. Se enviaron 4 mL de muestra del aceite esencial al Laboratorio de Investigación y Certificaciones (LABICER) de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Ingeniería. El análisis se realizó por inyección líquida con el Cromatógrafo de Gases. Shimadzu, GC-2010 Plus.

3.6.5. Evaluación de la actividad antibacteriana

Elaboración de las diferentes concentraciones de aceite esencial de *Salvia lanicaulis*.

Las diluciones del aceite esencial al 100%, 50%, 25% (v/v) se llevaron a cabo utilizando alcohol de 70° (Apéndice 5). Se empleó la siguiente fórmula matemática para calcular los volúmenes necesarios:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Donde:

C1: Concentración inicial (%)

V1: Volumen inicial (mL)

C2: Concentración final (%)

V2: Volumen final (mL)

Reactivación de las cepas: Para reactivar las cepas de *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923 se sembraron en placas de Petri con agar base sangre y se incubaron durante 18 -24 horas a 37°C (Apéndice 5).

Método de Kirby Bauer (74)

La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó mediante el método de difusión en disco (Kirby Bauer), determinando el porcentaje de inhibición a diferentes concentraciones del aceite esencial de las hojas de *S. lanicaulis* frente a dos especies de bacterias. Cada ensayo se realizó por triplicado.

Preparación del Agar Mueller Hinton: El medio de cultivo se preparó previamente siguiendo las indicaciones del fabricante. Se vertieron 20 mL de agar Mueller Hinton en placas de Petri estériles, asegurando una profundidad homogénea de 4 mm en cada placa. Posteriormente, se dejó que el agar se solidificara.

Preparación de inóculo: A partir de colonias aisladas en placas de Petri con agar base sangre, se realizó una suspensión directa en tubos de ensayo con 5 mL de solución salina estéril al 0,9 %, el inóculo resultante se ajustó a una turbidez equivalente al estándar 0,5 de McFarland ($1,5 \times 10^8$ células /mL).

Inoculación de placas: Dentro de los 15 minutos siguientes al ajuste de los tubos estandarizados a 0,5 de turbidez en la escala de McFarland, se procedió a hisopar las placas de Petri meticulosamente. Se sumergió el hisopo estéril en la suspensión, se separó por encima del nivel del líquido y se presionó varias veces sobre la pared interior del tubo para eliminar el exceso de inóculo. Se realizó un hisopado en tres direcciones de la superficie seca de la placa de Mueller Hinton, de extremo a extremo, cubriendo toda el área de la placa sin dejar bordes descubiertos.

Aplicación de los discos con aceite esencial: Se utilizaron discos en blanco a los cuales se les aplicaron 20ul de las concentraciones (100 %, 50 % y 25 %) de aceite esencial a temperatura ambiente; se dejaron reposar durante 15 minutos para permitir que los discos se impregnaran adecuadamente con el aceite esencial. Luego, se colocaron los discos en las ubicaciones rotuladas, asegurando su correcta adhesión a la superficie del agar. Las placas se incubaron a 37 °C durante 20 a 24 horas, cubiertas con papel Kraft y volteadas.

Para el control positivo: Se emplearon discos de gentamicina de 10ug como control positivo.

Lectura de las placas:

Medición de zonas de inhibición: La lectura de las placas se realizó después de la incubación, para tal fin, se utilizó el instrumento vernier digital en milímetros para medir los diámetros de los halos de inhibición alrededor de los discos.

Porcentaje de inhibición: El porcentaje de inhibición se determinó mediante la siguiente fórmula.

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\text{Halo de inhibición del aceite esencial}}{\text{Halo de inhibición del control}(+)} \times 100\%$$

Comparación de zonas de inhibición con escala de Duraffourd: Se tomaron como puntos de referencia los diámetros de las zonas de inhibición y las pautas utilizadas en los estudios microbiológicos por Duraffourd en 1983 (75):

- Nula (-) \leq 8 mm.
- Sensible (sensible =+) $>$ 8 a 14 mm.
- Muy sensible (muy sensible =++) $>$ 14 a 19 mm.
- Sumamente sensible (S.S.= +++) $>$ 19 mm.

3.7. Técnica de procesamiento y análisis de datos

Los datos fueron ingresados y procesados en una base de datos utilizando el software estadístico IBM SPSS Statistics versión 25.

Para el diámetro de los halos de inhibición, se calcularon algunas medidas de tendencia central (media aritmética y media geométrica) y de dispersión (desviación estándar); además, se verificó la normalidad de los datos usando el Test de Kolmogorov - Smirnov. Para comparar la actividad antibacteriana entre las muestras problema y los controles, se aplicó la prueba Kruskal Wallis. Se consideró un nivel de significación estadística de $p \leq 0,05$ (Apéndice 10).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados

4.1.1. Análisis sensorial, físico y químico del aceite esencial de *Salvia lanicaulis*

En la tabla 4, se muestran los resultados de los análisis sensoriales y fisicoquímicos del aceite esencial de las hojas frescas de *Salvia lanicaulis*.

Tabla 4. Características sensoriales y fisicoquímicas del aceite esencial de *salvia lanicaulis*.

	Rendimiento de extracción	
	Rendimiento (%)	0,03%
	Análisis organoléptico	
Características	Color	Ámbar oscuro
	Sabor	Levemente amargo
	Aroma	Floral herbal ligeramente cítrico
	Aspecto	Oleoso espeso
	Análisis fisicoquímico	
	Densidad (g/ml)	0,925
	pH	5,28
	Índice de refracción	1,507
	Índice de acidez	0,2805

4.1.2. Análisis de cromatografía

El análisis mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas permitió la identificación de 61 compuestos (Anexo 2,3), de los cuales cuatro representan la composición mayoritaria. Entre estos compuestos, Germacreno D es el componente químico con mayor proporción, como se muestra en los resultados detallados en las tablas 5 y 6.

Tabla 5. Componente químico principal del aceite esencial de *Salvia lanicaulis*.

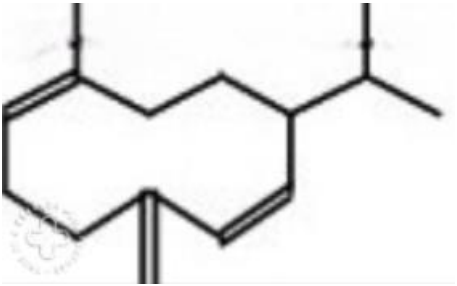
Aceite esencial	Componente principal (Análisis por inyección líquida)
<i>Salvia lanicaulis</i>	Germacreno D  (Abundancia relativa 25,95%)

Tabla 6. Composición química mayoritaria del aceite esencial de *Salvia lanicaulis*.

Componentes químicos	Aceite esencial (%)
Germacreno D	25,95
Ciclohexano,1-etenil-1-metil-2-(1-metiletilenil)-4-(1-metiletilideno)-	21,44
Cariofileno	15,69
2(10)-Pino, (1S,5S)- (-)-	9,90

4.1.3. Evaluación de la actividad antibacteriana

Los resultados demostraron que no hubo inhibición de crecimiento frente a *Escherichia coli* ATCC 25922; sin embargo, se observó una leve inhibición de crecimiento frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, como se muestra en las Tablas 7 y 8. De acuerdo con la escala de Duraffour, *E. coli* presentó sensibilidad nula frente a los diferentes grupos de aceites esenciales, mientras que *S. aureus* resultó sensible al aceite esencial al 100 %.

Tabla 7. Porcentaje de inhibición de las diferentes concentraciones del AE de *Salvia lanicaulis* frente a la cepa bacteriana *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tratamiento	<i>E. coli</i> (mm)			Promedio	Inhibición (%)
	Placa 1	Placa 2	Placa 3		
AE 100%	6,00	6,00	6,00	6,00	29,47
AE 50%	6,00	6,00	6,00	6,00	29,47
AE 25%	6,00	6,00	6,00	6,00	29,47
Gen(10ug)	20,40	20,30	20,40	20,36	

AE: Aceite esencial. Gen(10ug): Gentamicina de 10ug.

Tabla 8. Porcentaje de inhibición de las diferentes concentraciones del AE de *Salvia lanicaulis* frente a la cepa bacteriana *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tratamiento	<i>S. aureus</i> (mm)			Promedio	Inhibición (%)
	Placa 1	Placa 2	Placa 3		
AE 100%	8,10	8,00	8,10	8,07	34,67
AE 50%	6,90	7,30	6,00	6,73	28,94
AE 25%	6,00	6,50	6,00	6,17	26,50
Gen(10ug)	22,80	23,50	23,50	23,27	

AE: Aceite esencial. Gen(10ug): Gentamicina de 10ug.

Se determinaron las principales medidas descriptivas de los diámetros de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones del aceite de *Salvia lanicaulis* y el control frente a *E. coli* ATCC 25922 y *S. aureus* ATCC 25923. La prueba de Kruskal Wallis detectó diferencias estadísticamente significativas entre los diámetros obtenidos de las diferentes concentraciones del aceite esencial y el grupo control ($p \leq 0,05$), excepto en el caso de *S. aureus*, donde el diámetro obtenido con el aceite esencial al 100 % fue estadísticamente similar al del control ($p > 0,05$) (Tablas 9 y 10).

Tabla 9. Diámetro de halo de inhibición (en mm) del aceite esencial de *Salvia lanicaulis* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo
AE 100% ^a	6,00	0,00	6,00	6,00	6,00
AE 50% ^a	6,00	0,00	6,00	6,00	6,00
AE 25% ^a	6,00	0,00	6,00	6,00	6,00
Gen(10ug) ^b	20,37	0,06	20,40	20,30	20,40

AE: Aceite esencial. Gen(10ug): Gentamicina de 10ug.

Valores con letras diferentes denotan diferencias significativas entre los grupos, prueba de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

Tabla 10. Diámetro de halo de inhibición (en mm) del aceite esencial de *Salvia lanicaulis* sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Tratamiento	Media	Desviación estándar	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo
AE 100% ^{a, b}	8,07	0,06	8,10	8,00	8,10
AE 50% ^a	6,73	0,67	6,90	6,00	7,30
AE 25% ^a	6,17	0,29	6,00	6,00	6,50
Gen(10ug) ^b	23,27	0,40	23,50	22,80	23,50

AE: Aceite esencial. Gen(10ug): Gentamicina de 10ug.

Valores con letras diferentes denotan diferencias significativas entre los grupos, prueba de Kruskal-Wallis ($p \leq 0,05$).

4.2. Discusión

Desde tiempos ancestrales, las plantas medicinales han sido y siguen siendo consideradas uno de los recursos más importantes que la naturaleza brinda a la humanidad. Gracias a sus propiedades, se han podido tratar muchas enfermedades (76). *Salvia lanicaulis* es una especie nativa de la región de Cajamarca, utilizada con gran eficacia en la medicina tradicional, de ahí que conocer su composición química nos permitirá comprender de manera más amplia sus propiedades medicinales.

La destilación por arrastre de vapor de agua de las hojas frescas de *Salvia lanicaulis* ofreció un rendimiento de 0,03% (Tabla 4), valor cercano al obtenido por Ozcan *et al.* en Turquía (18), quienes obtuvieron 0,01 % a partir de hojas en estado seco de *Salvia*

pisidica. Además, otras especies como *S. leucantha Cav*, *S. sharifii*, *S. absconditiflora* y *S. ceratophylla*, *Salvia occidentalis*, *S. brandegeei* mostraron rendimientos de 0,16 % (77), 0,17 % (78), “0,75 %, 0,97 %” (79), 2,29 % (24), 4,15 % (80) respectivamente. Angulo *et al.* (81) indican que el aceite esencial de la mayoría de las plantas aromáticas está contenido en un rango de concentración del 0,01-10 %.

En cuanto a las características físicas y organolépticas, el aceite esencial de *Salvia lanicaulis* presenta un color ámbar oscuro, un sabor levemente amargo, un aroma floral herbal ligeramente cítrico, en cuanto al aspecto es oleoso espeso (Tabla 4). Estos atributos son similares a los encontrados por Lanza *et al.* (24), en el aceite esencial de *S. occidentalis* el cual fue de color amarillo y de aroma agradable. Es frecuente que los aceites esenciales presenten tonalidades amarillentas, que pueden variar según la parte de la planta utilizada en la extracción, ya sea hojas, flores, raíces, tallos o toda la parte aérea (58).

El aceite esencial de *S. lanicaulis* registró valores de 1,507 de índice de refracción, 0,2805 de índice acidez, 5,28 de pH, 0,925 g/ml de densidad (Tabla 4). Estos resultados son similares a lo encontrado por Diaz (82) y Elías *et al.* (83), quienes reportaron un índice de refracción entre 1,4375 y 1,4750, y densidades de 0,942 g/mL y 0,86g/mL, respectivamente. Respecto al índice de acidez, las normas técnicas peruanas para aceites esenciales indican que este no debe ser mayor a 2, en este caso la ligera diferencia observada podría atribuirse a la adaptación a mínimas cantidades durante la experimentación (73).

Los análisis de GC-MS del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* permitió la identificación de 61 compuestos, siendo los componentes mayoritarios: Germacreno D (25,95 %), Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2-(1-metiletilenil)-4-(1-metiletilideno) -(21,44 %), Cariofileno (15,69 %), 2(10)-Pinoeno, (1S,5S)-(-) (9,90 %). Estudios previos, como el de Belloum *et al.* (84), reportaron la presencia de Germacreno D (20,5%) en *S. verbenaca*, mientras que Blanco *et al.* (11), encontraron una proporción menor (5,8%) en *S. sclerea* L. Castrillón *et al.* (77), también reportaron la presencia de Germacreno D (10,6%) en el aceite esencial de flores de *S. leucantha cav.*

El componente mayoritario, germacreno D, se ha caracterizado por propiedades antibacterianas, antioxidantes e insecticidas, y en algunos casos se ha reportado que actúa como inductor de feromonas para atraer insectos (85)(86)(36). Por otro lado, otros compuestos mayoritarios como el pinoeno y el cariofileno , tanto individualmente como en combinación con otros componentes de aceites esenciales de diversas especies, también han demostrado una amplia actividad antibacteriana (87). Estos hallazgos sugieren que la actividad antibacteriana de los aceites esenciales no depende únicamente del porcentaje de cada componente, sino también de posibles interacciones sinérgicas entre ellos (88).

Shanaida *et al.* (20), identificaron en el aceite esencial de *S. sclerea* L. al acetato de linalilo y el linalol como componentes mayoritarios. Especies de *Salvia* spp. han sido caracterizadas por su alto contenido de 1,8 cineol (16-23 %) y, mientras que *S. officinalis* se distingue por presentar una elevada proporción de α -tuyona (15,7 %, 9,26 %) y alcanfor (18,92 %)(21) (23). Estos resultados evidencian similitudes significativas en la composición química entre las especies vegetales. En el Perú se estudió *S. sagitata* Ruiz

& Pav y *S. rhodostephana* (Epling.) las cuales mostraron contenidos de cariofileno (54,10%) y δ -3-careno (69,47 %), respectivamente, y se caracterizaron por su actividad antibacteriana (5)(25).

Durante la evaluación de la actividad antibacteriana, se observó que el aceite esencial de *S. lanicaulis* no mostró inhibición de crecimiento frente a *Escherichia coli* ATCC 25922; sin embargo, frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se observó inhibición del crecimiento a la concentración del 100%, con un halo de inhibición de 8,1 mm, que resultó ser estadísticamente similar ($p > 0,05$) al halo obtenido con el antibiótico gentamicina utilizado como control. En comparación con el estudio de Moumni *et al.* (19), el aceite esencial de *S. officinalis* mostró halos de inhibición de 8,3 mm para *S. aureus* y 11,3 mm para *E. coli*. Además, Shanaida *et al.* (20), determinaron que el aceite esencial de *S. sclerea* L. presentó zonas de inhibición de 30mm, 19mm para cepas clínicas y de referencia de *S. aureus* (25923) y *E. coli* (25922, respectivamente. Además, otro estudio señaló que el aceite esencial de *S. pisidica* mostró actividad antibacteriana frente a todas las cepas gram positivas probadas, incluyendo *S. aureus*, pero no se evidenció efecto en bacterias gram negativas, como *E. coli* (18).

Se observó que *S. aureus* es más sensible al aceite esencial de *S. lanicaulis* al 100 %, en comparación con *E. coli*. Esto se debe a que la pared celular de las bacterias gram positivas presenta una gruesa capa de peptidoglicano y menos compleja que la de las bacterias gram negativas, que además cuentan con una membrana externa que puede dificultar la penetración de los componentes del aceite esencial y reducir su efectividad (85). Los componentes que podrían haber contribuido a la leve actividad antibacteriana son el gemacreno D y el pineno, como se mencionó anteriormente. Esta leve actividad

antibacteriana sugiere que este aceite esencial podría ser un agente de interés frente a cepas de *S. aureus*, y abre la posibilidad de estudios adicionales frente a otras bacterias.

Durante el desarrollo del trabajo se produjeron ciertas limitaciones debido a la dificultad para obtener la cantidad necesaria de aceite esencial, esto se debió a que los equipos de destilación disponibles no eran adecuados para el comportamiento específico de la muestra. Se llevaron a cabo múltiples corridas en diferentes equipos de destilación de diversos tamaños para lograr obtener la cantidad adecuada, lo cual demandó un tiempo considerable para comprender completamente el comportamiento de la muestra en estudio. Además, no se encontraron estudios previos relacionados con el tema de interés, lo que limitó la disponibilidad de referencias y comparaciones.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Se determinó el perfil fitoquímico del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva mediante cromatografía de gases acoplado a espectrómetro de masas, se encontró como principales componentes: Germacreno D (25,95 %), Ciclohexano,1-etenil-1-metil-2-(1-metiletilenil)-4-(1-metiletilideno)- (21,44 %), Cariofileno (15,69 %) y 2(10)-Pinoeno, (1S,5S)-(-)(9,90 %).
- Se evaluó la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva mediante el método de difusión en disco. No se observó inhibición del crecimiento bacteriano frente a *E. coli* ATCC 25922; sin embargo, se evidenció sensibilidad a la concentración de 100 % frente a *S. aureus* ATCC 25923.

5.2. Recomendaciones

- ~ Al momento de la recolección de la materia prima (*Salvia lanicaulis* Epling & Játiva) se debe de tomar las medidas necesarias para evitar el maltrato de la planta, lo cual puede resultar en pérdidas durante la selección y afectar tanto la calidad como el rendimiento del aceite esencial.

- ~ Analizar inicialmente la estructura morfológica de los órganos de la planta en estudio (hojas, flores, tallos, raíces). Esto es crucial debido a las diferencias en las estructuras causadas por factores ambientales y mecanismos de protección desarrollados por la planta.

- ~ Evitar cortar las muestras de plantas en estado fresco en fragmentos pequeños, ya que esto puede ocasionar pérdida de esencias volátiles y afectar el rendimiento del aceite esencial. Es importante considerar que este consejo puede no aplicar a todas las especies, ya que el comportamiento de las plantas puede variar significativamente.

- ~ Continuar con estudios adicionales para determinar otras propiedades del aceite esencial de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva, especialmente debido a la alta presencia de sesquiterpenos identificados mediante la identificación semicuantitativa.

LISTA DE REFERENCIAS

1. Mcnair HM, Miller JM. Basic gas chromatography. 2nd ed. Canada: Wiley; 2009. 250 p.
2. Guía de fitoquímica [Internet]. Available from: <https://www.uv.mx/qfb/files/2020/09/Guia-de-Fitoquimica.pdf>
3. De Groot AC, Schmidt E. Essential Oils, Part III: Chemical Composition. *Dermatitis*. 2016;27:161–169.
4. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. Lima; 2018. p. 13.
5. Ponce GA. Composición química por cromatografía a gases y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Salvia sagittata* Ruiz & Pav frente a la *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* [Tesis de pregrado] [Internet]. Universidad Nacional del Centro del Perú; 2019. Available from: <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/5992>
6. Castillo Vera H, Albán Castillo J, Castañeda R. Importancia cultural de la flora silvestre de la provincia de Cajabamba, Cajamarca, Perú. *Arnaldoa*. 2019;26(3):1047–74.
7. Rodríguez M. Lamiaceae endémicas del Perú. *Rev Peru Biol*. 2006;13(2):371s-379s.
8. Minhui L, Qianquan L, Chunhong Z, Na Z, Zhanhu C, Luqi H, et al. Una investigación etnofarmacológica de plantas medicinales de *Salvia* (Lamiaceae) en China. *Acta Farm*. 2013;3:273–280.
9. Dirección Europea para la Calidad del Medicamento y la Asistencia Sanitaria del Consejo de Europa (EDQM). Guía sobre aceites esenciales en productos cosméticos. *Minist sanidad, Consum y binestar Soc*. 2016;1:19.

10. Abou DH, Amarowicz R, Kandeil A, Ali MA, Ibrahim EA. Antiviral activity of *Lavandula angustifolia* L. and *Salvia officinalis* L. essential oils against avian influenza H5N1 virus. J Agric Food Res [Internet]. 2021;4:100135. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100135>
11. Blanco J, Ruiz T, Vásquez FM, Cases M de los Á, Gervasini C. Composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Salvia sclarea* L. (Lamiaceae) en Extremadura. 2013;47–52.
12. Andrade S, Sánchez LE, Nevárez GV, Camacho A, Noguera B. Essential oils and their components as an alternative in the control of mosquito vectors of disease. Biomedica. 2017;37(2):224–43.
13. Quispe M, Tenorio E. Determinación fitoquímica y actividad antimicrobiana del aceite esencial de los órganos aéreos de *Lepechinia meyenii* (Walp .) Epling “pacha salvia” [Tesis de pregrado]. Universidad Wiener; 2018.
14. Panthee B, Gyawali S, Panthee P, Techato K. Environmental and Human Microbiome for Health. Life. 2022;12(3):456.
15. Yang SC, Lin CH, Aljuffali IA, Fang JY. Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. Arch Microbiol. 2017;199(6):811–25.
16. Solano A, Solano A, Ramirez X. Actualización del manejo de infecciones de las vías urinarias no complicadas Update on the management of uncomplicated urinary tract infections. Rev Medica Sinerg. 2020;5(2):e356.
17. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev. 2015;28:603–661.
18. Ozkan G, Sagdic O, Gokturk RS, Unal O, Albayrak S. Study on chemical

- composition and biological activities of essential oil and extract from *Salvia pispidica*. LWT - Food Sci Technol [Internet]. 2010;43(1):186–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.014>
19. Moumni S, Elaissi A, Trabelsi A, Merghni A, Chraief I, Jelassi B, et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of some lamiaceae species essential oils from Tunisia. BMC Complement Med Ther. 2020;20(1):1–15.
 20. Shanaida M, Hudz N, Białoń M, Kryvtsowa M, Svydenko L, Filipaska A, et al. Chromatographic profiles and antimicrobial activity of the essential oils obtained from some species and cultivars of the Menthae tribe (Lamiaceae). Saudi J Biol Sci. 2021;28(11):6145–52.
 21. Santana O, Cabrera R, Gonzáles A, Sánchez R, De los Mozos M, Rodríguez MF, et al. Perfil químico y biológico de aceites esenciales de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha (España). 2012;63(2):214–22.
 22. Najar B, Mecacci G, Nardi V, Cervelli C, Nardoni S, Mancianti F, et al. Volatiles and antifungal–antibacterial–antiviral activity of south african salvia spp. Essential oils cultivated in uniform conditions. Molecules. 2021;26(9):1–16.
 23. Tundis R, Leporini M, Bonesi M, Rovito S, Passalacqua NG. *Salvia officinalis* L. from Italy: A Comparative Chemical and Biological Study of Its Essential Oil in the Mediterranean Context. Molecules. 2020;25(24):1–16.
 24. Lanza J, Moreno S, Ortíz S, Fuentes J. Caracterización por cromatografía de gases y evaluación de la actividad citotóxica del aceite esencial de *Salvia occidentalis* Sw. (Lamiaceae) proveniente del estado Monagas, Venezuela. Av en Química. 2010;5(003):147–51.
 25. Marquez Y. Caracterización de los compuestos activos del aceite esencial de Salvia

- (*Salvia rhodostephana* Epling) por GC -SM [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional de Huancavelica; 2014.
26. Grant S, Niezgodá C. Field Museum of Natural History (Botany) Seed Plant Collection. Perú: Museo Field de Historia Natural, Cajamarca; 2020.
 27. Fernández JL. Estudios en Labiatae - VI. Hibridación en el género *Salvia* en Colombia y su interés horticultural. *Caldasia*. 2008;30(1):21–48.
 28. GBIF Secretariat [Internet]. 2023. *Salvia* L. GBIF Backbone Taxonomy. Available from: <https://doi.org/10.15468/39omei>
 29. Hernández T, Agero M, Carretero E, Villar del Fresno A. *Salvia*, Fitoquímica, farmacología y terapéutica. *Dep Farmacol Fac Farm UCM*. 2002;16.
 30. González J. Interés farmacéutico de la *Salvia officinalis* y de la *Euphrasia officinalis*. *Univ Salamanca*. 2009;1:157–71.
 31. Chalvin C, Drevensek S, Chollet C, Gilard F, Šolić E, Dron M, et al. Study of the genetic and phenotypic variation among wild and cultivated clary sages provides interesting avenues for breeding programs of a perfume, medicinal and aromatic plant. *PLoS One*. 2021;16(7).
 32. Zhou J, Xie X, Tang H, Peng C, Peng F. The bioactivities of sclareol: A mini review. *Front Pharmacol*. 2022;13.
 33. Porres M, González E, Carretero ME, Gómez MP. Phytochemical composition, antioxidant and cytoprotective activities of essential oil of *Salvia lavandulifolia* Vahl. *Food Res Int* [Internet]. 2013;54(1):523–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.029>
 34. Lineo C. Colección Botánica. Barcelona; 1989. p. 205–36.
 35. López M. Los aceites esenciales. Elsevier [Internet]. 2004;23(7):88–91. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales->

13064296

36. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas Medicinales. 2da ed. Zaragoza, España: Acribia, I.J.R; 2001.
37. Morocho S. Caracterización micro-histológico, físico y químico del aceite esencial de las hojas de matico (*Piper aduncum*), extraído por arrastre de vapor en un equipo modular [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional del Antiplano. 2017.
38. Martínez A. Aceites Esenciales. Medellín: Publicado por Universidad de Antioquía, Medellín(2003); 2001. p. 34.
39. Álvarez FJ, Barrajón E, Herranz M, Micol V. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: An updated review on their effects and putative mechanisms of action. *Phytomedicine*. 2021;90:1–16.
40. Saad NY, Muller CD, Lobstein A. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour Fragr*. 2013;28:269–279.
41. Gill AO, Holley RA. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *Int J Food Microbiol*. 2006;111:170–174.
42. Di Pasqua R, Betts G, Hoskins N, Edwards M, Ercolini D, Mauriello G. Membrane Toxicity of Antimicrobial Compounds from Essential Oils. *J Agric Food Chem*. 2007;55:4863–4870.
43. Di Pasqua R, Mamone G, Ferranti P, Ercolini D, Mauriello G. Changes in the proteome of *Salmonella enterica* serovar Thompson as stress adaptation to sublethal concentrations of thymol. *Proteomics*. 2010;(10):1040–1049.
44. Di Pasqua R, Hoskins N, Betts G, Mauriello G. Changes in Membrane Fatty Acids Composition of Microbial Cells Induced by Addition of Thymol, Carvacrol, Limonene, Cinnamaldehyde, and Eugenol in the Growing Media. *J Agric Food*

- Chem. 2006;54:2745–2749.
45. Treybal RE. Operaciones de Transferencia de Masa. 2da ed. McGraw Hill; 2007. 378 p.
 46. Puhlow M. El gran libro de las plantas medicinales. 6ta ed. España: Everest; 1985.
 47. Guenther E. The Essential Oils. Vol. 1, History and origin in Plants Production Analysis. New York, USA: Posted by Krieger; 1948.
 48. Palomino A, Cerpa A. Hidroextracción de los aceites esenciales. Callao, Perú: Memorias de la IV reunión de fenómenos de transporte; 1999.
 49. Journal of Chemical Education. Chem Educ [Internet]. 1991; Available from: <https://doi.org/10.1021/ed057p531>
 50. Kerrola K, Kallio H. Volatile compounds and odor characteristics of carbon dioxide extracts of coriander (*Coriandrum sativum* L.) fruits. J Agric Food Chem. 1993;41:785–780.
 51. Ette LS. Nomenclature for chromatography. Pure & Appl, Chem. 1993;65(4):819–72.
 52. Guerrero J. Identificar y prevenir mediante el análisis cromatografico de gases del aceite dieléctrico. Lima: UNI; 2006.
 53. Ch GT, Lock O. Aislamiento y caracterización de un triterpenoide a partir de la gentianella thyrsoidea hooker fabris. Rev Peru Química e Ing Química. 2001;4(1):30–5.
 54. Raymond C. Química General. 10th ed. Estados Unidos: chemistry; 2008. 145 p.
 55. International Organization for Standardization. Essential oils: determination of refractive index. 2da ed. ISO 280; 1998.
 56. Giacomo A, Mincione B. Oli essenziali di agrumi in Italia. Editore. Italia: Sottoprogetto 4, monografía raisa n°3, Laruffa; 1994.

57. Viturro C, Bandoni A, Dellacassa E, Serafini L, Elder H. Normalización de productos naturales obtenidos de especies de la flora aromática latinoamericana - Problemática Schinus en Latinoamérica. Latinoamérica: Proyecto CYTED IV.20; 2010.
58. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2da ed. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
59. Clark B, Chamblee T. Acid-catalyzed reaction of citrus oils and other terpene-containing flavors, In off-flavors and beverages. Elsevier Science Pub. New York: Charalambous; 1992. 229–285 p.
60. Price JR, Cole K, Bexley A, Kostiou V, Eyre DW, Golubchik T, et al. Transmission of *Staphylococcus aureus* between health-care workers, the environment, and patients in an intensive care unit: a longitudinal cohort study based on whole-genome sequencing. Articles [Internet]. 2017 [cited 2021 May 4]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/>
61. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2014;61(1):28–40.
62. Deatherage D, Kepner J, Bennett A, Lenski R, Barrick J. Specificity of genome evolution in experimental populations of *Escherichia coli* evolved at different temperatures. Proc Natl Acad Sci. 2017;114(10):E1904–12.
63. Dowhan W, Bogdanov M, Mileykovskaya E, Vitrac H. Functional Roles of Individual Membrane Phospholipids in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. Biog Fat Acids, Lipids Membr. 2017;1–22.
64. Scheutz F, Strockbine NA, Genus I. The Proteobacteria Part B The Gammaproteobacteria. 2 (Part B). Escherichia. In: Brenner, D.J. et al, editor. Springer; 2005. 607–623 p.

65. Reyes F, Palou E, López A. Métodos de evaluación de la actividad antimicrobiana y de determinación de los componentes químicos de los aceites esenciales. *Temas Sel Ing Aliment.* 2014;8(1):68–78.
66. Ramírez S, Castaño M. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Sci Tech.* 2009;2(42).
67. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;45:493–496.
68. Webber DM, Wallace MA, Burnham CD. Stop Waiting for Tomorrow: Disk Diffusion Performed on Early Growth Is an Accurate Method for Antimicrobial Susceptibility Testing with Reduced Turnaround Time. *J Clin Microbiol.* 2022;60(5):1–10.
69. Cavalieri SJ, Harbeck RJ, McCarter YS, Ortez JH, Rankin ID, Sautter RL, et al. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Coyle MB, editor. Seattle, Washington; 2005. 248 p.
70. S. National Committee for Clinical Laboratory, "Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 4th ed. Approved standard. Document M7-A4. " National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa., .
71. Huanca C. Estudio fitoquímico del aceite esencial de la *Aloysia aloysioides* Loes & Moldenke y su evaluación de la actividad antibacteriana y antifúngica [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2021.
72. Norma Técnica Peruana NTP-ISO 280:2011 (revisada el 2016) Aceites Esenciales. Determinación del índice de refracción. In: 1a ed.
73. Norma Técnica Peruana, NTP 319.085:1974 (revisada el 2016) Aceites esenciales. Determinación del índice de acidez. Reemplaza a la NTP 319.085:1974 (Revisada

- el 2011). In: 1a ed.
74. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Ministerio de Salud. Lima; 2002. p. 67.
 75. Barrenechea A. Evaluación in vitro de la actividad antibacteriana del gel de *Lepechinia meyenii* (walp) Epling “pacha salvia” frente a *Staphylococcus spp.* aislados de infecciones post cesárea en pacientes del hospital nacional madre niño “San Bartolomé”, Lima – Perú [Tes. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2020.
 76. Abdallah E. Plants: An alternative source for antimicrobials. J Appl Pharm Sci. 2011;16–20.
 77. Castrillon-Cardona WF, Matulevich-Pelaez JA, Rodríguez-Martínez JA, Silva-Carrero DA. Composición química del aceite esencial de flores De *Salvia leucantha* Cav. (Lamiaceae). Fac Ciencias Básicas [Internet]. 2020;15(1):41–6. Available from: <https://doi.org/10.18359/r fcb. 3615>
 78. Zahra Aghaee, Ardalan Alizadeh, Mehrzad Honarvar, Samani RB. Phytochemical screening and antimicrobial activity of *Salvia sharifii* Rech. & Esfand from Iran. Nat Prod Res. 2022;36(10):2585–90.
 79. Demirpolat A. Essential Oil Composition Analysis, Antimicrobial Activities, and Biosystematic Studies on Six Species of *Salvia*. Life. 2023;13(3):634.
 80. Cruz I. Evaluación de extractos y aceites esenciales de plantas del género *salvia* para el control de plagas agrícolas [master’s thesis]. Universidad Autónoma de Baja California; 2018.
 81. Introducción a la industria de los aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas. SENA (Servicio Nacional de Aprendizaje); 2012. p. 33p.
 82. Díaz M. Determinación del rendimiento a diferentes tiempos de extracción de

- aceite esencial de la raíz *Salvia trifilis* Epling (mejorana) por el método de arrastre de vapor. *Agroindustrial Sci.* 2017;7(2):73–7.
83. Elías J, Sichez J, Yauris C, Pérez R. Composición química, características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de aceites esenciales de cinco hierbas aromáticas. *Cultura Viva Amazónica - Revista de Investigación Científica* -. 2019;4(2):12.
 84. Belloum Z, Chalard P, Figuerédo G, Marchioni E, Zao M, Benayache F, et al. Chemical composition of the essential oil of *Salvia verbenaca* (L.) Briq. ssp. clandestina (L.) Pugsl. *Res J Pharm Biol Chem Sci.* 2014;5(6):262–5.
 85. Bülow N, König W. The role of germacrene D as a precursor in sesquiterpene biosynthesis: Investigation of acid catalyzed, photochemically and thermally induced rearrangements. *Phytochemistry.* 2000;55(2):141–68.
 86. Noriega P. Terpenes in Essential Oils: Bioactivity and Applications [Internet]. In: *Terpenos y terpenoides: avances recientes* [Internet]. IntechOpen; 2021. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.93792>
 87. Flores E, Sáenz A, Castañeda AO, Narro RI. Romero (*Rosmarinus officinalis* L.): su origen, importancia y generalidades de sus metabolitos secundarios. *Rev Espec en Ciencias Químico-Biológicas.* 2020;23:1–17.
 88. Lucena M, Escalante M, González V, Rojas L, Cordero de Rojas Y, Ustáriz F, et al. Composición y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Austroeupatorium inulifolium* (Kunth) King & Robinson (Asteraceae). *Rev Cuba Farm.* 2019;52(4):16.

APÉNDICES Y ANEXOS

APÉNDICES

Apéndice 1. Especie vegetal.



A. *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva



B. Observación y selección de hojas en buen estado.

Apéndice 2. Acondicionamiento de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva.



A. Lavado del material vegetal. B. Dispersión del material vegetal sobre papel Kraft.

Apéndice 3. Destilación del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva.



A. Equipo de extracción por arastre de vapor de agua.

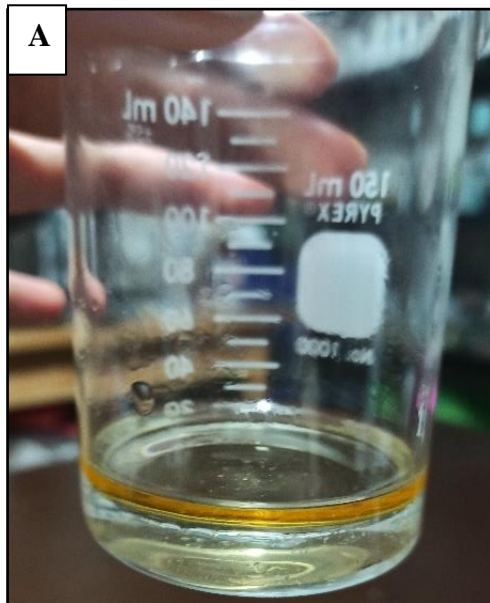


B. Colocación del material vegetal en el tanque.



C. Obtención y almacenamiento del aceite esencial.

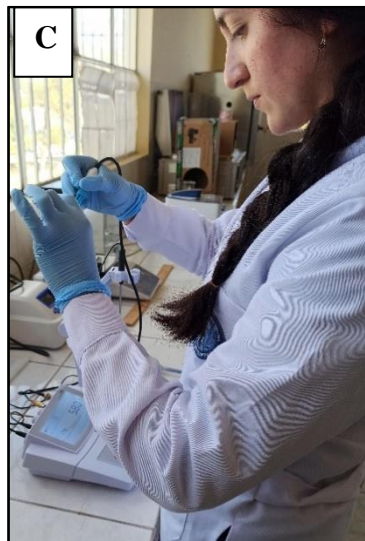
Apéndice 4. Análisis sensorial, físico y químico del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis*.



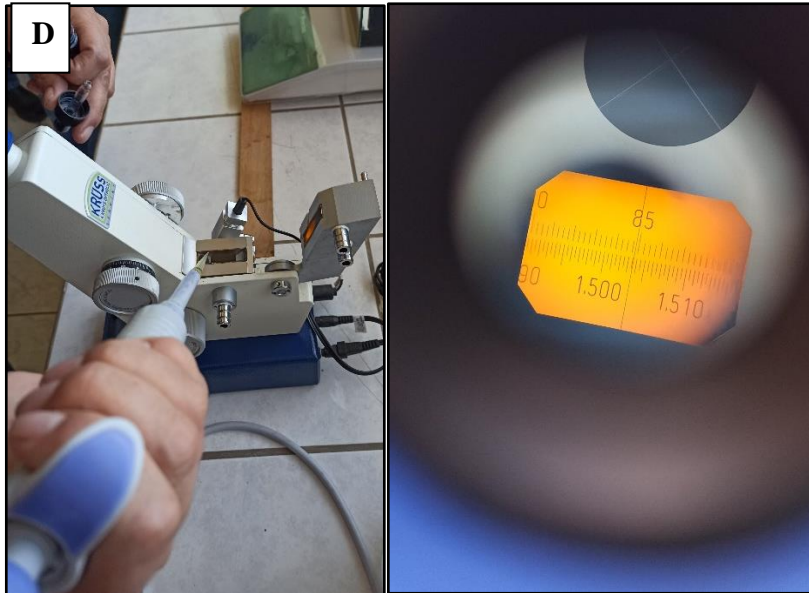
A. Análisis sensorial.



B. Determinación de la densidad.



C. Determinacion del pH.

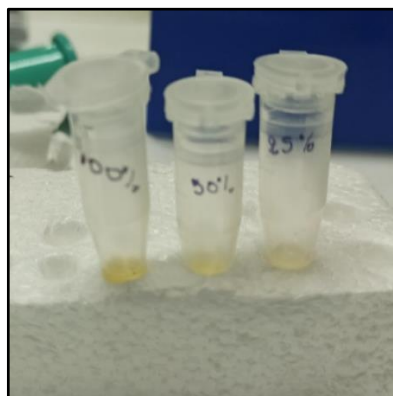


D. Determinación del Índice de Refracción.

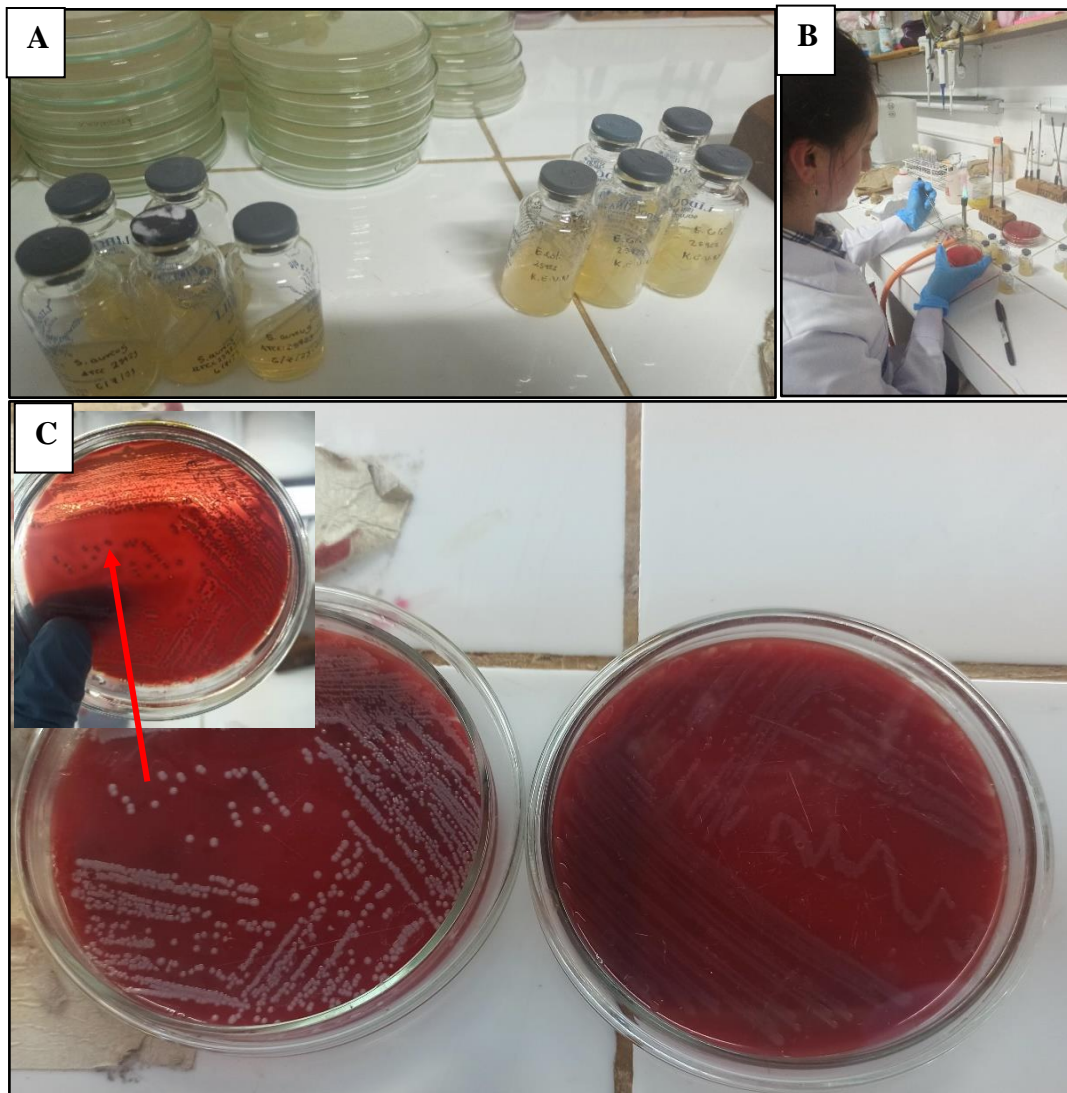


E. Determinación del índice de acidez.

Apéndice 5. Dilución del aceite esencial al 50% y 25% (v/v).

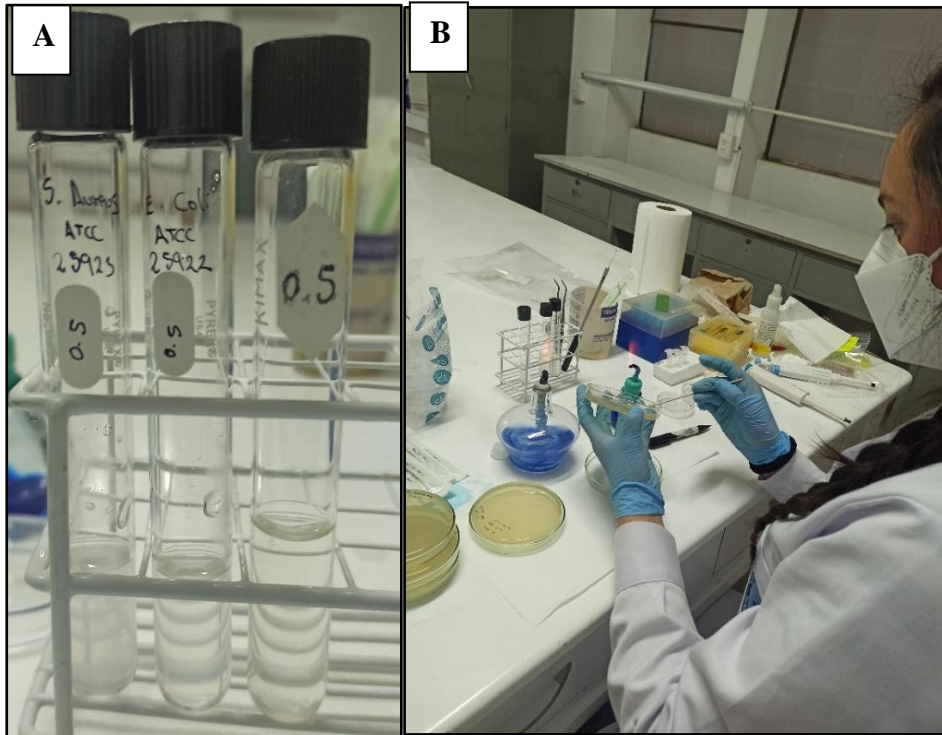


Apéndice 6. Reactivación de cepas.

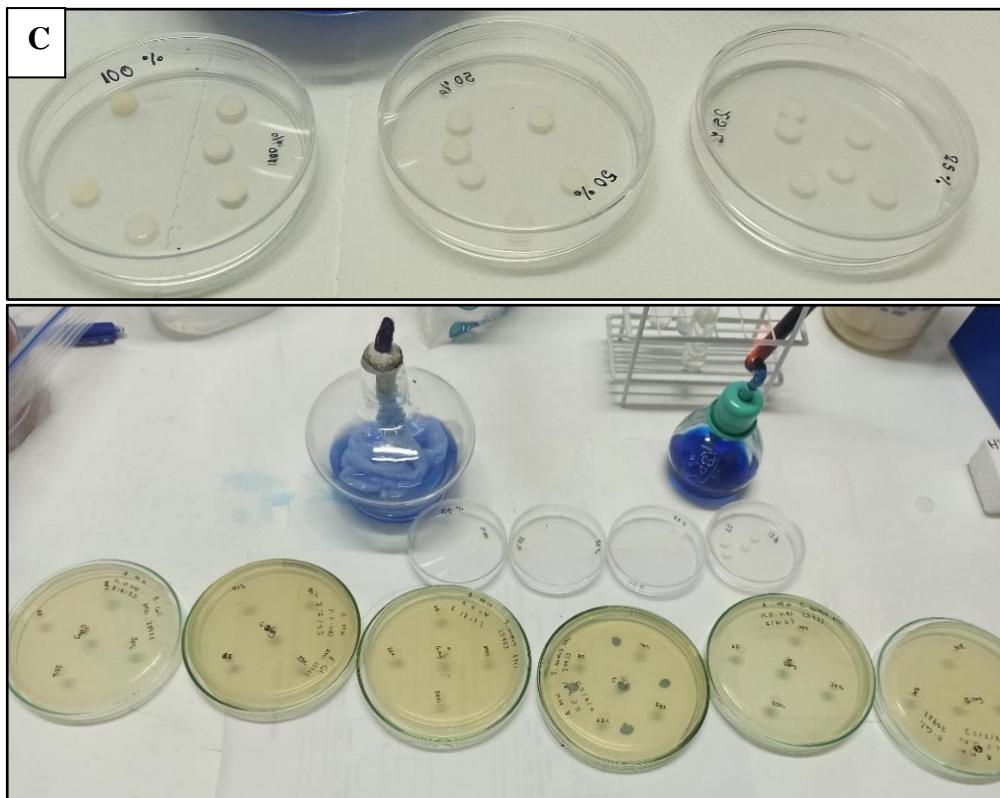


A. Cepas *S. aureus* ATCC 25923 y *E. coli* ATCC 25922 (de izquierda a derecha).
B. Cultivo de las cepas bacterianas en agar base sangre. C. Colonias aisladas de las cepas.

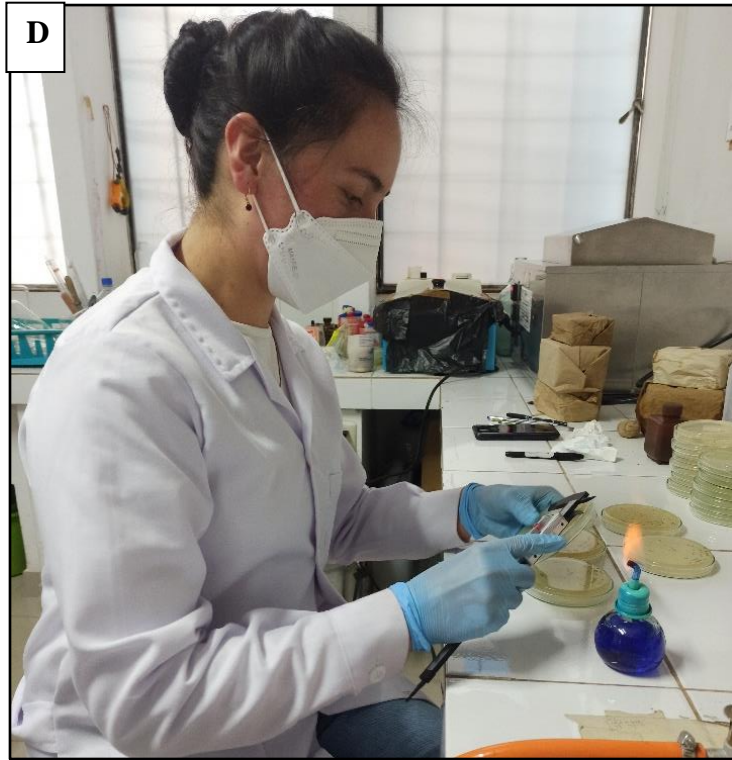
Apéndice 7. Método de difusión en disco (Kirby Bauer).



A. Ajuste de la turbidez al estándar N° 0,5 de Mac Farland. B. Inoculación de placas.

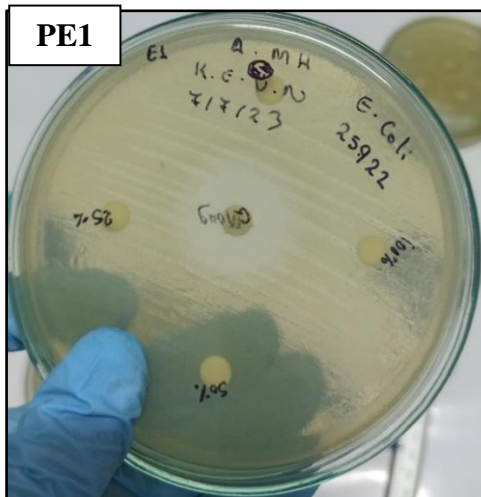


C. Aplicación de discos con aceite esencial.

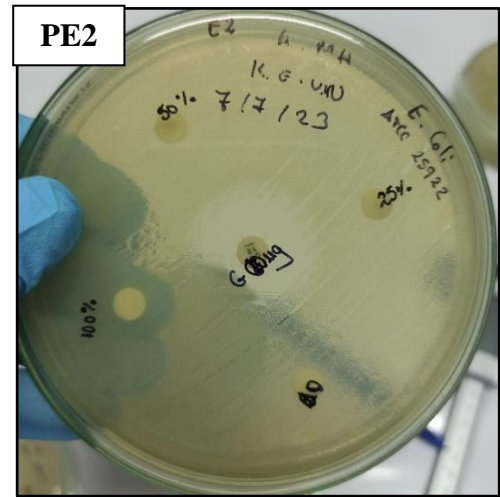


D. Medición de halos de inhibición.

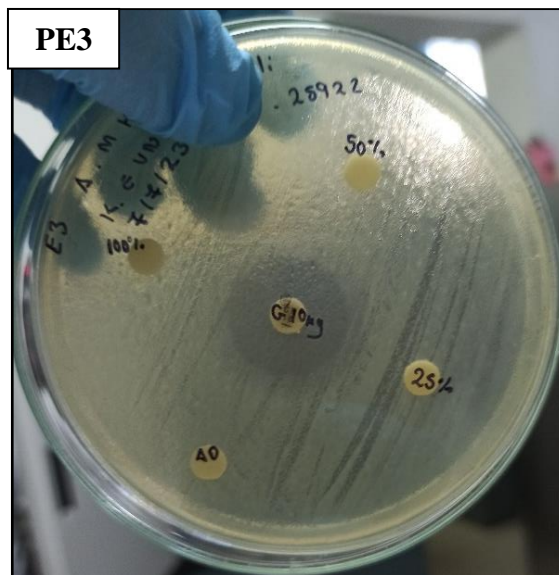
Apéndice 8. Evaluación de la actividad antibacteriana del AE de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.



PE1: Placa 1 de *E. coli*.

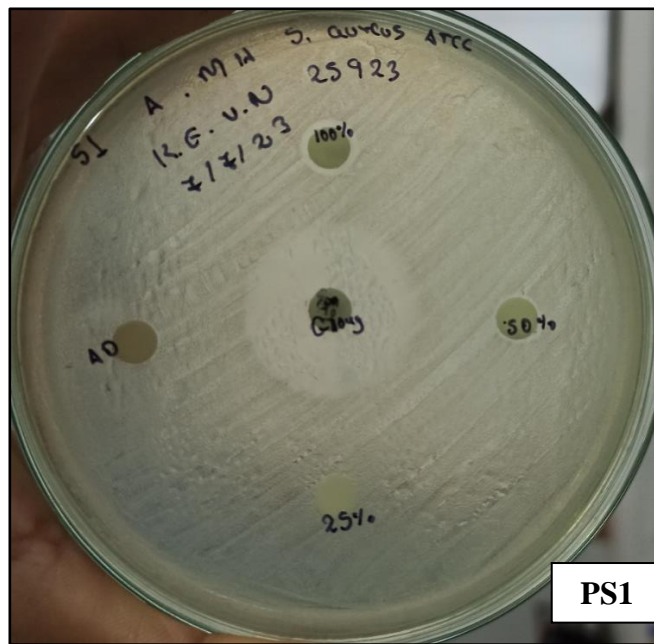


PE2: Placa 2 de *E. coli*.

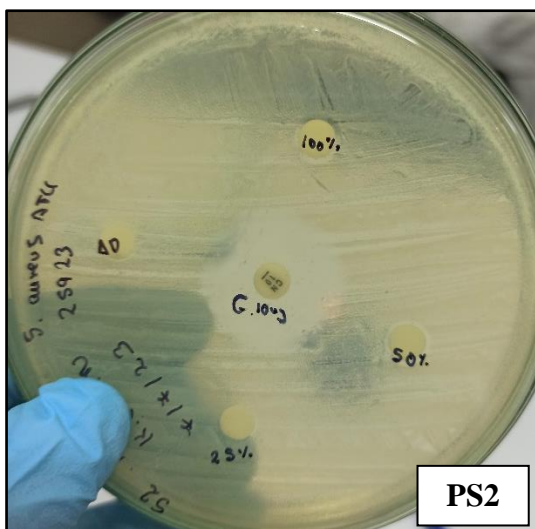


PE3: Placa 3 de *E. coli*.

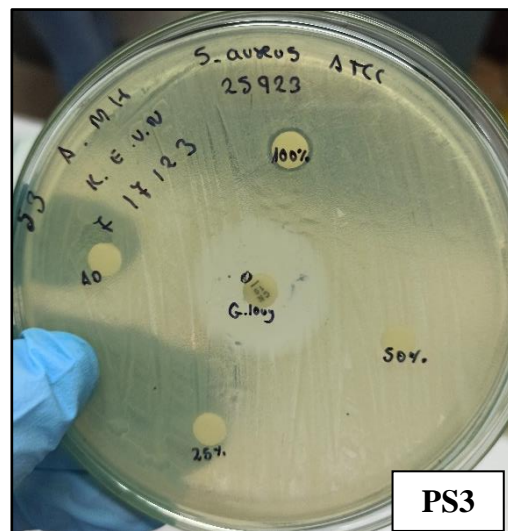
Apéndice 9. Evaluación de la actividad antibacteriana del AE de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



PS1: Placa 1 de *S. aureus*.



PS2: Placa 2 de *S. aureus*.



PS3: Placa 3 de *S. aureus*.

Apéndice 10. Análisis estadísticos.

Prueba de hipótesis:

Concentraciones del AE de *Salvia lanicaulis* frente a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Hipótesis estadísticas:

H₀: Los diámetros de los halos de inhibición para cepas de *E. coli* entre los grupos son iguales.

H_a: Los diámetros de los halos de inhibición para cepas de *E. coli* entre los grupos son diferentes.

Nivel de significación:

$p \leq 0,05$

Prueba estadística:

Kruskal- Wallis

Grupo	N	Rango promedio
AE 100 %	3	5,00
AE 50 %	3	5,00
AE 25 %	3	5,00
Gen 10ug	3	11,00
Total	12	

	Halo de inhibición
H de Kruskal-Wallis	10,800
gl	3
Sig. asintótica	0,013

Decisión:

$p > 0,05$: No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05$: Se rechaza la hipótesis nula

Conclusión:

Los diámetros de los halos de inhibición para las cepas de *E. coli* entre los grupos son diferentes.

Pruebas post Hoc:

Comparaciones por parejas

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.
AE 100 %-AE 50 %	,000	2,236	,000	1,000
AE 100 %-AE 25 %	,000	2,236	,000	1,000
AE 100 %-Gen 10ug	-6,000	2,236	-2,683	,007
AE 50 %-AE 25 %	,000	2,236	,000	1,000
AE 50 %-Gen 10ug	-6,000	2,236	-2,683	,007
AE 25 %-Gen 10ug	-6,000	2,236	-2,683	,007

Prueba de Hipótesis:

Concentraciones del AE de *Salvia lanicaulis* frente a las cepas bacterianas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Hipótesis estadísticas:

H₀: Los diámetros de los halos de inhibición para cepas de *S. aureus* entre los grupos son iguales.

H_a: Los diámetros de los halos de inhibición para cepas de *S. aureus* entre los grupos son diferentes.

Nivel de significación:

$p \leq 0,05$

Prueba estadística:

Kruskal- Wallis

Concentración	N	Rango promedio
AE 100 %	3	8,00
AE 50 %	3	4,33
AE 25 %	3	2,67
Antibiótico	3	11,00
Total	12	

	Halo de inhibición
H de Kruskal-Wallis	9,874
gl	3
Sig. asintótica	,020

Decisión:

$p > 0,05$: No se rechaza la hipótesis nula.

$p \leq 0,05$: Se rechaza la hipótesis nula

Conclusión:

Los diámetros de los halos de inhibición para las cepas de *S. aureus* entre los grupos son diferentes.

Pruebas post hoc:

Comparaciones por parejas

Sample 1-Sample 2	Estadístico de prueba	Desv. Error	Desv. Estadístico de prueba	Sig.
AE 25 %-AE 50 %	1,667	2,913	,572	,567
AE 25 %-AE 100 %	5,333	2,913	1,831	,067
AE 25 %-Gen 10ug	-8,333	2,913	-2,861	,004
AE 50 %-AE 100 %	3,667	2,913	1,259	,208
AE 50 %-Gen 10ug	-6,667	2,913	-2,289	,022
AE 100 %-Gen 10ug	-3,000	2,913	-1,030	,303

ANEXOS

Anexo 1. Constancia de identificación taxonómica de la *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva. Universidad Nacional de Cajamarca. Herbario CPUN "Isidoro Sánchez Vega".



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ÁREA DE BOTÁNICA
HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA"
herbariocpuniv@gmail.com Av. Atahualpa N° 1050 - Cajamarca



EL CURADOR DEL HERBARIO CPUN "ISIDORO SÁNCHEZ VEGA", DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA – PERÚ

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica procedente del centro poblado Perlamayo Tres Lagunas, distrito de Chugur, provincia de Hualgayoc, departamento de Cajamarca, ubicado a 3441 msnm, latitud de 6° 39' 52.9" S y longitud de 78° 41' 9" W. Presentada por la Bachiller: **Katherine Esther Vásquez Núñez** de la Escuela Académico Profesional de Biología y Biotecnología de la Universidad Nacional de Cajamarca. Es parte del Proyecto: "Perfil fitoquímico y actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923".

Las cuales fueron analizadas y determinadas científicamente en nuestra institución como:

- Especie: *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva
- Género: *Salvia*
- Familia: Lamiaceae
- Orden: Lamiales
- Clase: Magnoliopsida
- División: Magnoliophyta

Se expide el presente para los fines que sean necesarios.

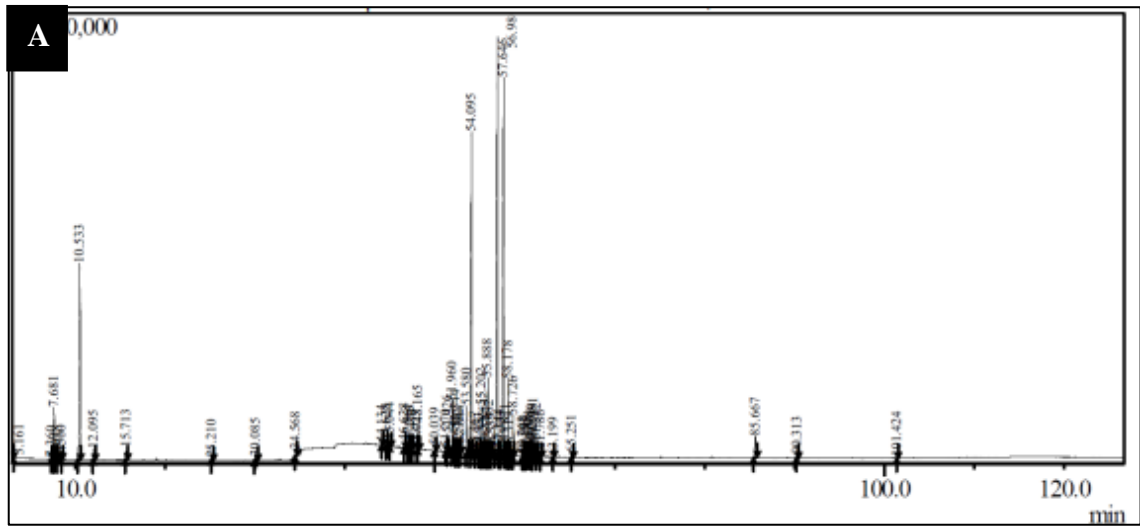
Cajamarca, 07 de junio del 2023



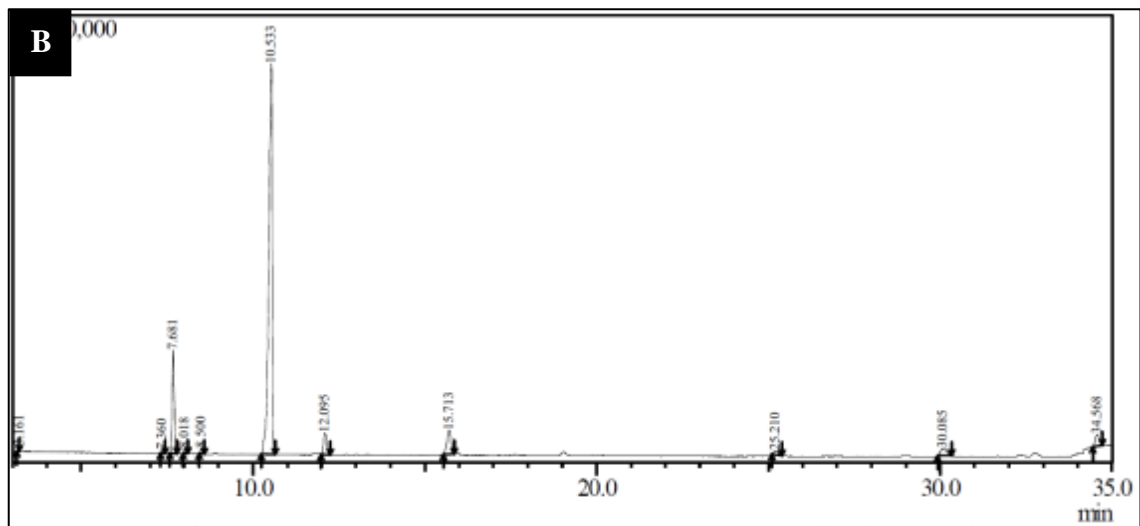
Ing. Juan F. Montoya Quino
Curador del Herbario "Isidoro Sánchez Vega"
CPUN-UNC

cc: Secretaria del Herbario.

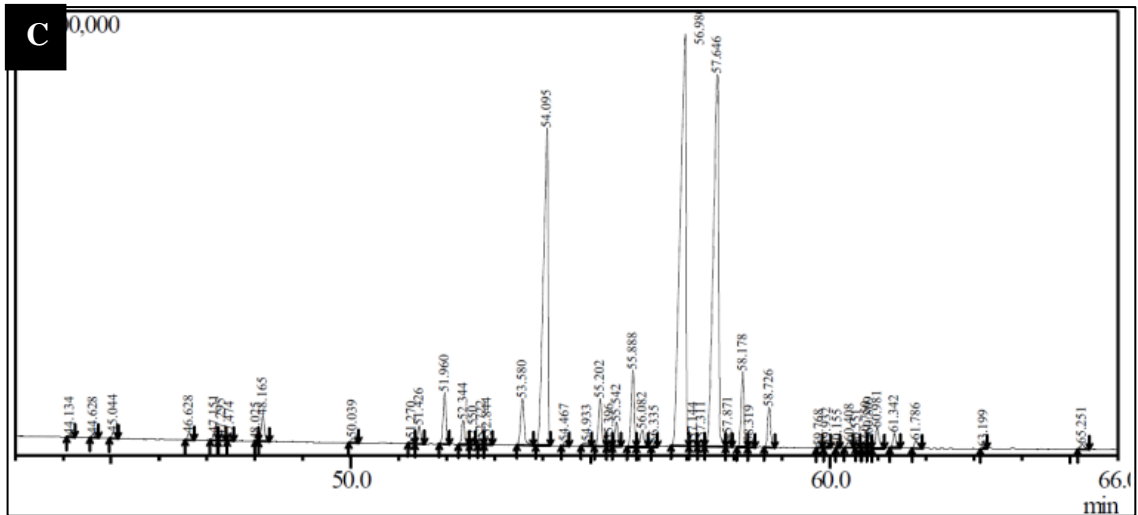
Anexo 2. Datos cromatográficos del aceite esencial de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva en estado fresco del análisis por Inyección Líquida.



A. Primera parte de cromatografía de 3 a 126 minutos de aceite esencial de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva, en estado fresco. Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ciencias. Informe de ensayo N° 1418 – 23– LABICER.



B. Segunda parte de cromatografía de 3 a 35 minutos de aceite esencial de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva en estado fresco. Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ciencias. Informe de ensayo N° 1418 – 23– LABICER.



C. Tercera parte de cromatografía de 43 a 66 minutos de aceite esencial de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva en estado fresco. Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ciencias. Informe de ensayo N° 1418 – 23– LABICER.

Anexo 3. Resultado de composición del aceite esencial de las hojas de *Salvia lanicaulis* Epling & Játiva en estado fresco. Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ciencias. Informe Técnico N° 1418 – 23 – LABICER.

Peak#	R. Time	Area	Area%	Name
1	3.161	189442	0.03	Octane
2	7.360	260723	0.04	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-
3	7.681	9294645	1.52	.alpha.-Pinene
4	8.018	437059	0.07	Acetic acid, hex-3-yl ester
5	8.500	563405	0.09	Camphene
6	10.533	60376683	9.90	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-
7	12.095	2909307	0.48	.beta.-Myrcene
8	15.713	4495587	0.74	D-Limonene
9	25.210	767861	0.13	Cyclohexene, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)-
10	30.085	2034211	0.33	Nonanal
11	34.568	2027623	0.33	3-Octanol, acetate
12	44.134	431843	0.07	Citronellol
13	44.628	736292	0.12	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-
14	45.044	1204324	0.20	Myrtenyl acetate
15	46.628	1374712	0.23	Citral
16	47.151	1438361	0.24	2,5,5,8a-Tetramethyl-3,4,4a,5,6,8a-hexahydro-2H-chromene
17	47.295	796546	0.13	Bornyl acetate
18	47.474	279361	0.05	2H-1-Benzopyran, 3,4,4a,5,6,8a-hexahydro-2,5,5,8a-tetramethyl-, (2.alpha.,4
19	48.025	85619	0.01	Bicyclo[3.1.1]hept-2-en-4-ol, 2,6,6-trimethyl-, acetate
20	48.165	5233464	0.86	trans-Pinocarvyl acetate
21	50.039	1244378	0.20	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-
22	51.270	901174	0.15	Longifolene
23	51.426	3666455	0.60	1,2,4-Metheno-1H-indene, octahydro-1,7a-dimethyl-5-(1-methylethyl)-, [1S-
24	51.960	9891512	1.62	Copaene
25	52.344	4844256	0.79	(-)-.beta.-Bourbonene
26	52.550	258060	0.04	1,4-Methano-1H-indene, octahydro-4-methyl-8-methylene-7-(1-methylethyl)
27	52.722	1080400	0.18	1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methyl-
28	52.844	1959731	0.32	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2
29	53.580	11054744	1.81	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-,
30	54.095	95731414	15.69	Caryophyllene
31	54.467	758645	0.12	1H-Cyclopenta[1,3]cyclopropa[1,2]benzene, octahydro-7-methyl-3-methyl-
32	54.933	1135772	0.19	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-
33	55.202	9818264	1.61	(1R,3aR,8aS)-7-Isopropyl-1,4-dimethyl-1,2,3,3a,6,8a-hexahydroazulene
34	55.396	931003	0.15	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-,
35	55.542	4768722	0.78	Humulene
36	55.888	15256197	2.50	(1R,9R,E)-4,11,11-Trimethyl-8-methylenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene
37	56.082	4719628	0.77	(E)-.beta.-Famesene
38	56.335	534869	0.09	2,6,10-Trimethyltridecane
39	56.980	158328577	25.95	Germacrene D
40	57.144	1343626	0.22	5-Hydroxy-6-methoxy-8-[(4-amino-1-methylbutyl)amino]quinoline trihydro-
41	57.311	1329901	0.22	Butanoic acid, 2-methyl-, 2-phenylethyl ester
42	57.646	130787395	21.44	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-
43	57.871	2007451	0.33	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2
44	58.178	14631343	2.40	.beta.-Bisabolene
45	58.319	912933	0.15	(3S,3aR,3bR,4S,7R,7aR)-4-Isopropyl-3,7-dimethyloctahydro-1H-cyclopenta
46	58.726	8047163	1.32	1-Isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene
47	59.768	234372	0.04	Caryophyllene oxide
48	59.932	420764	0.07	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)-
49	60.155	79352	0.01	(3aR,3bS,6S,6aR,6bS)-6-Isopropyl-3b-methyloctahydrocyclobuta[1,2,3,4]di
50	60.408	1579606	0.26	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, (E)-
51	60.551	87452	0.01	(3R,3aR,3bR,4S,7R,7aR)-4-Isopropyl-3,7-dimethyloctahydro-1H-cyclopenta
52	60.750	1513524	0.25	(2E,4S,7E)-4-Isopropyl-1,7-dimethylcyclodeca-2,7-dienol
53	60.809	2611805	0.43	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(
54	60.981	5153512	0.84	Caryophyllene oxide
55	61.342	2925794	0.48	1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol, decahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha
56	61.786	1776854	0.29	Ledol
57	63.199	244360	0.04	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(
58	65.251	1289568	0.21	Cyclohexanol, 3-ethenyl-3-methyl-2-(1-methylethenyl)-6-(1-methylethyl)-, [
59	85.667	9914521	1.63	geranyl-.alpha.-terpinene
60	90.313	1098123	0.18	Kaur-16-ene
61	101.424	256349	0.04	Thunbergol
		610066637	100.00	