



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

**“EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES
ANTIMICROBIANAS DE LOS FITOEXTRACTOS DE
Artemisia annua L., *Hibiscus sabdariffa* L., *Paronychia
argentea* Lam.”**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

EILEEN LENDECH ESCOBAR

DIRECTOR DE TESIS:

D.C. MA. DOLORES CASTAÑEDA ANTONIO

CODIRECTOR:

D.C. ALMA LOPEZ GARCÍA

PUEBLA, PUEBLA, MÉXICO

NOVIEMBRE, 2025

“La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo”.

- Marie Curie

“La ciencia y la vida cotidiana no pueden ni deben separarse”

- Rosalind Franklin

DEDICATORIA

Es un honor para mí dedicar la presente tesis y expresar mi más profundo agradecimiento a mis papás, Alma Ruth Escobar Solis y Francisco Javier Lendeck Cruz, por ser mi mayor ejemplo, motivación e inspiración, quienes con su esfuerzo y dedicación me han apoyado para lograr concluir con esta etapa de mi vida académica.

Gracias por los consejos que me han dado a lo largo de mi camino. Gracias por alentarme, guiarme y tenerme la confianza en que podría lograr culminar mis estudios, gracias por enseñarme a no rendirme, a ser perseverante.

Su dedicación, sacrificio y enseñanza sobre el valor del esfuerzo constante y la perseverancia han sido los pilares sobre los cuales he construido mis sueños.

Gracias mami, por tu generosidad y amor. Te admiro por ser una mujer capaz de enfrentar las adversidades y salir adelante con fortaleza y entrega. Gracias por ser esa voz constante que me recordó lo lejos que podía llegar; tu fe en mí fue el impulso que necesitaba para no rendirme. Gracias papá, por creer en mí y enseñarme el valor del conocimiento y la importancia de seguir aprendiendo cada día.

Esta tesis es mi modesta forma de agradecerles todo lo que han hecho por mí, siendo el reflejo de todo lo que me han enseñado desde mi niñez. Gracias por confiar y creer cada día en mí, darme su amor y la oportunidad de terminar mis estudios, siendo así el mejor regalo que me pueden obsequiar. Admiro su dedicación y esfuerzo, gracias por demostrarme que no hay límites para lo que se quiere lograr.

Los amo mucho, mamá y papá ♡.

- Eileen Lendeck Escobar

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser mi guía en la toma de decisiones, por darme la fortaleza en mis días de incertidumbre y por darme la sabiduría y entendimiento para culminar mis estudios. Gracias por las bendiciones que me has otorgado cada día.

En memoria de mis abuelitos maternos, Jovita y Raúl, quienes fueron como unos padres para mí que con su amor, fortaleza y nobleza me inculcaron grandes valores. Gracias por enseñarme a perseguir mis metas con ayuda y guía de Dios y por alentarme a ser mejor cada día. El apoyo y las enseñanzas que me brindaron permanecerán como un legado invaluable y un recuerdo lleno de gratitud. Aunque no estén físicamente conmigo, su espíritu y amor continúan guiándome en cada paso de mi vida, los amo y extraño mucho, besos y abrazos hasta el cielo.

A mis abuelitos paternos, Ignacia y Francisco, por su cariño, enseñanzas y oraciones constantes. Gracias por ser ejemplo de fortaleza, sabiduría y bondad. Gracias por su apoyo, sus consejos llenos de sabiduría y por ser un refugio en mi vida. Los amo.

A mis papás, por creer siempre en mí, incluso cuando yo dudaba de mí, nunca me cansaré de agradecerles todo el esfuerzo que realizaron para lograr mis sueños, ninguna palabra es suficiente para expresar tanto agradecimiento.

A mi hermana Les, por acompañarme con atención y cariño en mi trayectoria académica, por su apoyo constante y por considerarme un ejemplo en la búsqueda de sus propios sueños. Gracias por apoyarme, confiar en mí y por ser una fuente de motivación para lograr mis metas. Te amo mucho.

A mi hermana Amy, por escucharme aunque no tuvieras conocimiento de lo que te decía, por comprenderme con ternura a pesar de tu corta edad y por brindarme esos abrazos tan reconfortantes. Gracias por apoyarme y confiar en que lo podría lograr. Te amo mucho.

A mi familia Escobar, por el apoyo que me brindaron y por las palabras de aliento que me motivaron a culminar este proyecto y esta etapa de mi vida.

A mi novio Ale, por ser el mejor compañero en mi formación académica, por su amor, comprensión y palabras de aliento que me impulsaron a seguir adelante. Gracias por acompañarme con paciencia, motivarme y celebrar conmigo cada logro. Gracias por confiar en mí y por ser mi impulso para alcanzar mis metas. Te amo mucho.

A mis amigos, por su apoyo y compañía a lo largo de esta etapa. Gracias por estar presentes y por celebrar conmigo cada logro.

A mi directora de tesis del Instituto de Ciencias, D.C. Ma. Dolores Castañeda Antonio, por su valiosa orientación, apoyo y constante asesoramiento, los cuales fueron fundamentales para que este proyecto se llevara a cabo de manera exitosa. Gracias por compartir sus conocimientos y confiar en mis capacidades, por su guía en el desarrollo de este proyecto y apoyo brindado para concluir esta etapa.

A mi codirectora de tesis, D.C. Alma López García, por compartir sus conocimientos y brindarme su valioso asesoramiento, el cual fue fundamental para culminar este proyecto y cerrar una importante etapa de mi formación académica.

A mi comisión revisora, por el tiempo dedicado a la revisión de este proyecto y por las enriquecedoras observaciones y sugerencias que me permitieron mejorar y culminar exitosamente este proyecto.

Este proyecto, con el cual concluyo mi licenciatura y una etapa importante de mi vida, es fruto del esfuerzo, apoyo y motivación de todas las personas que han formado parte de mi desarrollo profesional y personal. Gracias ♡.

Índice

Resumen	16
Introducción.....	17
Marco teórico	18
Historia de las plantas medicinales.....	18
Origen de la etnobotánica	19
Composición fitoquímica y usos terapéuticos de las plantas medicinales	19
Etnobotánica en México	22
Planta de ajeno dulce (<i>Artemisia annua</i> L.).....	23
Taxonomía.....	23
Etimología.....	23
Descripción	23
Distribución geográfica y requisitos ecológicos.....	24
Historia del uso de <i>A. annua</i> L.....	25
Principales componentes químicos y compuestos bioactivos.....	25
Usos fitoterapéuticos de <i>A. annua</i> L.....	26
Planta de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.).....	26
Taxonomía.....	26
Etimología.....	27
Descripción	27
Distribución geográfica y requisitos ecológicos.....	28
Historia del uso de <i>H. sabdariffa</i> L.....	28
Principales componentes químicos y compuestos bioactivos.....	29
Usos fitoterapéuticos de <i>H. sabdariffa</i> L.....	29
Planta de sanguinaria (<i>Paronychia argentea</i> Lam.)	30
Taxonomía.....	30
Etimología.....	30
Descripción	31
Distribución geográfica y requisitos ecológicos.....	31
Historia del uso de <i>P. argentea</i> Lam.	31
Principales componentes químicos y compuestos bioactivos.....	32
Usos fitoterapéuticos de <i>P. argentea</i> Lam.....	32

<i>Preparación de los especímenes para la obtención de compuestos bioactivos de origen vegetal</i>	32
.....	
<i>Técnicas de secado</i>	32
<i>Técnicas de extracción</i>	33
Maceración	33
Extracción por Soxhlet	33
Técnica por Microondas	34
Técnica por Ultrasonido	34
Extracción con fluidos supercríticos (EFS).....	34
<i>Técnicas de caracterización de fitocompuestos en extractos vegetales</i>	35
Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM).....	35
<i>Métodos para las pruebas antimicrobianas</i>	41
Métodos de difusión.....	42
Método de difusión en disco de agar	44
Método de difusión en pocillos de agar.....	45
Métodos de dilución.....	45
Método de gradiente antimicrobiano	47
Bacterias de importancia clínica	49
<i>Escherichia coli</i>	49
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51
<i>Salmonella sp.</i>	52
<i>Shigella sp</i>	54
<i>Staphylococcus aureus</i>	55
Mecanismos de acción de los fitocompuestos	56
Marco de referencia	59
Planteamiento del problema	63
Pregunta de investigación	64
Justificación	64
Objetivos	65
Objetivo general	65
Objetivos específicos	65
Hipótesis	66

Diseño de la investigación	66
Materiales y Metodología	67
Metodología	69
Diagrama de la metodología experimental	69
Adquisición de las plantas	73
Proceso de secado y pulverización del material vegetal	74
Obtención de extractos	75
Extracción asistida por ultrasonido (EAU) o por sonicación	77
Filtración para análisis cromatográfico y análisis microbiológico	78
Esterilización del extracto vegetal para el análisis microbiológico	78
Identificación de compuestos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM)	79
Preparación del material	81
Preparación de medios de cultivos	81
Suspensiones bacterianas en caldo nutritivo	82
Preparación de estándares de McFarland	83
Preparación y estandarización de inóculos	84
Pruebas de inhibición antimicrobiana	85
<i>Método de difusión en agar</i>	85
Análisis de datos	88
<i>Microdilución en caldo</i>	88
Resultados y Discusión	94
Concentraciones obtenidas de los diferentes extractos	94
Identificación de cepas bacterianas	94
Estandarización del inóculo bacteriano	95
Actividad antimicrobiana de los fitoextractos	97
Ensayos antibacterianos de extractos de <i>Artemisia annua</i> L., <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam. en organismos de prueba bacterianos	97
Método de difusión en agar con la técnica de Kirby-Bauer modificado	97
Análisis estadísticos	99
Método de dilución en caldo: microdilución en placa	104
Goteo por Sellado en Placa Masivo	106
Caracterización Fitoquímica mediante Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (CG/EM)	112

Conclusiones.....	161
Bibliografía	163
Anexos	185

Índice de figuras

Figura 1. Representación de los fitocompuestos presentes en las plantas. Elaboración propia.	21
Figura 2. Propiedades terapéuticas de los fitoquímicos presentes en las plantas. Elaboración propia.	21
Figura 3. Flores, hojas y ramas de <i>Artemisia annua</i> L. (Bernatoniene et al., 2024).	23
Figura 4. Planta de <i>Artemisia annua</i> L. de dos meses de edad, antes de la floración (Jacobus et al., 2023). .	23
Figura 5. Representación de los fitocompuestos presentes en <i>Artemisia annua</i> L. Elaboración propia.	25
Figura 6. Hojas y cáliz de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (Gweyi et al., 2021).	26
Figura 7. Planta de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (Pande & Kannan, 2025).	27
Figura 8. Fruto maduro de <i>Hibiscus sabdariffa</i> : (A) los cálices carnosos; (B) cápsula de semillas verdes (Gweyi et al., 2021).	28
Figura 9. Estructura química general de las antocianinas. Elaboración propia.	30
Figura 10. Flor de <i>Paronychia argentea</i> Lam. (Curini et al., 2024).	30
Figura 11. Tallos y flores de planta <i>Paronychia argentea</i> Lam. (<i>P. argentea</i> Lam.) (Sait et al., 2015).	31
Figura 12. Principios fisicoquímicos de la cromatografía (Reineccius & Qian, 2024)	37
Figura 13. Esquema de una instrumentación CG/EM (Pastor et al., 2023).	39
Figura 14. Preparación del inóculo microbiano de McFarland mediante la suspensión directa de colonias según lo recomendado por las directrices del CLSI (Balouiri et al., 2016). Modificado.	42
Figura 15. Modelo de un resultado obtenido con el método de difusión en discos de agar o método de Kirby-Bauer (Balouiri et al., 2016).	44
Figura 16. Modelo de un resultado obtenido con el método de difusión en disco de agar Kirby-Bauer que muestra diferentes zonas de inhibición en AMH (Agar Mueller Hinton) (Salam et al., 2023).	45
Figura 17. Ejemplo de un resultado obtenido del método de difusión en pocillos de agar (Xiu et al., 2023). .	45
Figura 18. Microdilución de caldo para pruebas antibacterianas según lo recomendado por el protocolo de CLSI (Balouiri et al., 2016). Elaboración propia.	46
Figura 19. Resultados obtenidos con método de dilución: a) Microdilución en caldo (concentraciones de antimicrobianos que aumentan al doble, de izquierda a derecha en las líneas A-H; los pocillos recuadrados en la esquina inferior derecha representan los controles de crecimiento). b) Macrodilución en caldo (concentraciones de antimicrobianos que aumentan al doble, de izquierda a derecha en los tubos; los tubos marcados con + y - representan el control de crecimiento y el control de esterilidad, respectivamente) (Feßler et al., 2023).	47
Figura 20. Ejemplo tira del método de gradiente antimicrobiano y modelo de resultado.	48
Figura 21. Componentes estructurales y factores de virulencia de <i>E. coli</i> (Arafi et al., 2023).	50
Figura 22. Representación esquemática de los principales factores de virulencia de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (Monteiro et al., 2024).	51
Figura 23. Estructura celular y factores de virulencia importantes en la patogénesis de las infecciones causadas por <i>P. aeruginosa</i> (Killough et al., 2022).	52
Figura 24. Estructura celular de <i>Salmonella</i> spp. y antígenos principales: antígenos flagelares (H), de cápsula (K) y somáticos (O) (Teklemariam et al., 2023).	53
Figura 25. Morfología y estructura celular de <i>Shigella</i> spp. Factores de virulencia: SST3 (sistema de secreción de tipo III); SST6 (sistema de secreción de tipo VI); g4c (cápsula del grupo 4); IcsA (proteína de propagación intracelular (Leow et al., 2024).	55
Figura 26. Estructura celular de <i>Staphylococcus aureus</i> y factores de virulencia modulinas solubles en fenol (PSMSs), toxina del síndrome de shock tóxico 1 (TSST-1), las enterotoxinas estafilocócicas (SEs) y las toxinas similares a superantígenos estafilocócicos (SSL) (Shaghayegh et al., 2022).	56
Figura 27. Mecanismo de acción descrito para fitocompuestos antimicrobianos (Pérez et al., 2025). Modificado.	59
Figura 28. Diagrama general de la metodología experimental para la evaluación antimicrobiana de los fitoextractos.	73

Figura 29. Ubicación del Jardín Etnobiológico Tlaxcallan donde se adquirieron las plantas: <i>Artemisia annua</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam.	74
Figura 30. Ubicación de la región donde se cultiva y vende la planta <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	74
Figura 31. Proceso de secado de la planta de <i>Artemisia annua</i> L. Izquierda: antes de secar y Derecha: después de secar.	74
Figura 32. Plantas trituradas y pulverizadas. a) <i>Artemisia annua</i> L., b) <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., c) <i>Paronychia argentea</i> Lam.	75
Figura 33. Plantas trituradas en bolsa hermética para su posterior uso. a) <i>Artemisia annua</i> L., b) <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., c) <i>Paronychia argentea</i> Lam.	75
Figura 34. Muestra pesada de <i>Artemisia annua</i> L.	76
Figura 35. Muestra pesada de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	76
Figura 36. Muestra pesada de <i>Paronychia argentea</i> Lam.	76
Figura 37. Extractos etanólico, hexánico y cloroformico de <i>Artemisia annua</i> L.	76
Figura 38. Extractos etanólico, hexánico y cloroformico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L.	76
Figura 39. Extractos etanólico, hexánico y cloroformico de <i>Paronychia argentea</i> Lam.	76
Figura 40. Extractos de plantas: a) Recipientes con 2 g de cada materia vegetal (<i>Artemisia annua</i> L., <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam.) y b) Materia vegetal con solvente hidroetanólico para las pruebas de inhibición antimicrobiana.	77
Figura 41. Sonicator (Sunne) para la extracción de fitocompuestos.	77
Figura 42. Extracción de extractos vegetales por extracción asistida por ultrasonido (EAU), de izquierda a derecha: <i>Artemisia annua</i> L., <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam.	77
Figura 43. Filtrado no esterilizado de extractos hidroetanólicos de plantas, de izquierda a derecha: <i>Artemisia annua</i> L., <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam.	78
Figura 44. Esterilización mediante un filtrado.	78
Figura 45. Esterilización por filtrado: a) Esterilización mediante un filtrado con un portafiltro de jeringa y uso de bomba de aire, b) Viales con extracto o filtrado estéril, de izquierda a derecha: <i>Artemisia annua</i> L., <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam.	79
Figura 46. Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890A acoplado a un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.	80
Figura 47. Carrusel con muestras para la toma de muestra (1 μ L) por el puerto de inyección y la identificación de fitocompuestos.	80
Figura 48. Cromatograma obtenido de una muestra en cromatografía de gases Agilent Technologies 7890A.	80
Figura 49. Proceso de pesaje para la preparación del medio de cultivo de agar Mueller-Hinton.	81
Figura 50. Proceso de pesaje para la preparación del caldo nutritivo.	81
Figura 51. Tubos con 10 mL de caldo nutritivo para esterilizar en autoclave.	82
Figura 52. Esterilización de medios de cultivo y material requerido para la evaluación antimicrobiana.	82
Figura 53. Cepas aisladas en agar nutritivo.	83
Figura 54. Cepas inoculadas en caldo nutritivo a partir de cepas en agar nutritivo (figura 53), de izquierda a derecha: <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>Shigella</i> sp. y <i>Staphylococcus aureus</i>	83
Figura 55. Preparación de los estándares de McFarland en el laboratorio. Imagen que muestra tubos de ensayo con 1% de cloruro de bario y 1% de ácido sulfúrico.	84
Figura 56. Espectrofotómetro (TAISITE) utilizado para la medición de absorbancia a una longitud de onda de 625 nm.	84
Figura 57. Suspensión bacteriana a 0.5 de McFarland, de izquierda a derecha: <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella</i> sp., <i>Shigella</i> sp. y <i>Staphylococcus aureus</i>	85
Figura 58. Viales de extractos hidroetanólicos estériles, controles positivos y control negativo. Izquierda a derecha: <i>Artemisia annua</i> L., <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam., cefotaxima (30 mg/mL), azitromicina (30 mg/mL) y control negativo (etanol:agua (50:50 v/v)).	86

Figura 59. Izquierda: Placa Petri rotulada. Derecha: Distribución de las gotas de extractos, controles positivos y control negativo para las pruebas de inhibición mediante la técnica de Kirby-Bauer modificado.	87
Figura 60. Incubación de las placas a 30°C durante 18 - 24 horas.	87
Figura 61. Ejemplo de medida del halo de inhibición (5.900 mm) del extracto hidroetanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. frente a <i>Klebsiella pneumoniae</i> , en la aplicación ImageJ.	88
Figura 62. Caldo Mueller-Hinton.	89
Figura 63. Proceso de pesaje para la preparación de caldo Mueller-Hinton.	89
Figura 64. Viales con dilución 1:2 de los extractos iniciales. De izquierda a derecha: <i>Artemisia annua</i> L., <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam.	89
Figura 65. Microplaca para la evaluación de extractos en <i>Escherichia coli</i> . Columna 1: extractos a 512 mg/mL y caldo Mueller-Hinton, Fila A – C: extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y Fila D – F: extracto de <i>Paronychia argentea</i> Lam.	90
Figura 66. Esquema de microplaca con las concentraciones correspondientes en cada pocillo de un extracto a evaluar y los controles de crecimiento y esterilidad.	91
Figura 67. Microplaca terminada para la evaluación de extractos de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam., en <i>Escherichia coli</i>	91
Figura 68. Proceso de agitación durante la incubación de microplacas en el agitador GyroTwister de Labnet.	92
Figura 69. Sellado de inóculo de cada pocillo de la microplaca en medio Mueller-Hinton.	92
Figura 70. Placas selladas del inóculo de cada pocillo de la microplaca mediante la metodología de “Goteo por Sellado en Placa Masivo” para conocer la concentración mínima inhibitoria de los fitoextractos frente a las bacterias sensibles.	93
Figura 71. Interpretación de la técnica de sellado para conocer la CMI de los fitoextractos evaluados.	93
Figura 72. Curva de calibración de los Estándares de McFarland.	96
Figura 73. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Escherichia coli</i> como microorganismo de prueba.	98
Figura 74. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Klebsiella pneumoniae</i> como microorganismo de prueba.	98
Figura 75. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Pseudomonas aeruginosa</i> como microorganismo de prueba.	98
Figura 76. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Salmonella</i> sp. como microorganismo de prueba.	98
Figura 77. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Shigella</i> sp. como microorganismo de prueba.	98
Figura 78. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Staphylococcus aureus</i> como microorganismo de prueba.	98
Figura 79. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a <i>Escherichia coli</i> , con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.	101
Figura 80. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a <i>Klebsiella pneumoniae</i> , con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.	102
Figura 81. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.	103
Figura 82. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a <i>Salmonella</i> sp., con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.	103
Figura 83. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a <i>Staphylococcus aureus</i> , con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.	104
Figura 84. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam. frente a <i>Escherichia coli</i>	105

Figura 85. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam. frente a <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	105
Figura 86. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	105
Figura 87. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de <i>Artemisia annua</i> L. y <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., frente a <i>Salmonella</i> sp.	106
Figura 88. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. y <i>Paronychia argentea</i> Lam. frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	106
Figura 89. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (CMI= 256 mg/mL) y <i>Paronychia argentea</i> Lam. (CMI= > 512 mg/mL) frente a <i>Escherichia coli</i> .	107
Figura 90. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (CMI= 256 mg/mL) y <i>Paronychia argentea</i> Lam. (CMI= 512 mg/mL) frente a <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	107
Figura 91. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (CMI= 128 mg/mL) frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	107
Figura 92. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de <i>Artemisia annua</i> L. (CMI= 512 mg/mL) y <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (CMI= 128 mg/mL) frente a <i>Salmonella</i> sp.	108
Figura 93. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (CMI= 64 mg/mL) y <i>Paronychia argentea</i> Lam. (CMI= 256 mg/mL) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	108
Figura 94. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto etanólico de <i>Artemisia annua</i> L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 19 compuestos.	113
Figura 95. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de cloroformo de <i>Artemisia annua</i> L. extraído por el método de maceración/sonicación se identificaron 15 compuestos.	120
Figura 96. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de hexano de <i>Artemisia annua</i> L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 8 compuestos.	126
Figura 97. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto etanólico de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 12 compuestos.	129
Figura 98. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de cloroformo de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 14 compuestos.	135
Figura 99. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de hexano de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 11 compuestos.	140
Figura 100. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto etanólico de <i>Paronychia argentea</i> Lam. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 10 compuestos.	145
Figura 101. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de cloroformo de <i>Paronychia argentea</i> Lam. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 18 compuestos.	149
Figura 102. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de hexano de <i>Paronychia argentea</i> Lam. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 10 compuestos.	155
Figura 103. Representación general de los componentes de la pared celular de una bacteria gramnegativa (<i>E. coli</i>) que podrían verse afectados por los ácidos grasos (Casillas et al., 2021).	160
Figura 104. Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Escherichia coli</i> . Tubo de izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea.	186
Figura 105. Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Klebsiella pneumoniae</i> . Tubo de Izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea.	186
Figura 106. Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Tubo de Izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea. Medio OF: Resultado oxidativo.	186
Figura 107. Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Salmonella</i> sp. Tubo de Izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea. Medio OF: Resultado fermentativo.	186
Figura 108. Pruebas bioquímicas para la identificación de <i>Shigella</i> sp. Tubo de Izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea.	186
Figura 109. Pruebas de identificación de <i>Staphylococcus aureus</i> . Izquierda: Prueba de agar sal y manitol, Derecha: Prueba agar ADasa.	186

<i>Figura 110. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Escherichia coli como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.</i>	187
<i>Figura 111. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Escherichia coli como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.</i>	187
<i>Figura 112. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Escherichia coli como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.</i>	187
<i>Figura 113. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Klebsiella pneumoniae como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.</i>	187
<i>Figura 114. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Klebsiella pneumoniae como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.</i>	187
<i>Figura 115. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Klebsiella pneumoniae como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.</i>	187
<i>Figura 116. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Pseudomonas aeruginosa como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.</i>	188
<i>Figura 117. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Pseudomonas aeruginosa como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.</i>	188
<i>Figura 118. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Pseudomonas aeruginosa como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.</i>	188
<i>Figura 119. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Salmonella sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.</i>	188
<i>Figura 120. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Salmonella sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.</i>	188
<i>Figura 121. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Salmonella sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.</i>	188
<i>Figura 122. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Shigella sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.</i>	189
<i>Figura 123. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Shigella sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.</i>	189
<i>Figura 124. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Shigella sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.</i>	189
<i>Figura 125. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Staphylococcus aureus como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.</i>	189
<i>Figura 126. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Staphylococcus aureus como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.</i>	189
<i>Figura 127. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando Staphylococcus aureus como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.</i>	189

Índice de tablas

Tabla 1. Criterios de inclusión y exclusión que se aplicaron en la investigación.	67
Tabla 2. Materiales biológicos para la evaluación de la actividad antimicrobiana de los fitoextractos.	68
Tabla 3. Extractos de plantas, controles positivos y control negativo para los antibiogramas. Nota: <i>Artemisia annua</i> L. F - T/H (Flor – Tallo-Hoja), <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. F (Flor), <i>Paronychia argentea</i> Lam. H/R (Hoja/Raíz).	86
Tabla 4. Concentraciones de los extractos hidroetanólicos de <i>Artemisia annua</i> L. F - T/H (Flor – Tallo-Hoja), <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. F (Flor), <i>Paronychia argentea</i> Lam. H/R (Hoja/Raíz). *La concentración en relación droga-extracto (RDE) es en g:mL.	94
Tabla 5. Resultados de pruebas bioquímicas para la identificación de los microorganismos de estudio gramnegativos. Los resultados se corroboraron con lo reportado por Romero (2024).	95
Tabla 6. Resultados de pruebas bioquímicas para la identificación del microorganismo de estudio grampositivo.	95
Tabla 7. Resultados de absorbancia de los estándares de McFarland para la curva de calibración y estandarización de los inóculos bacterianos.	96
Tabla 8. Concentraciones de los inóculos bacterianos a partir de la ecuación de la recta (figura 72) para la estandarización a 0.5 del estándar de McFarland (1.5x10 ⁸ UFC/mL), CLSI.	97
Tabla 9. Resultados de la evaluación antimicrobiana mediante el método de difusión agar con la técnica de Kirby-Bauer modificado. Nota: R: Resistente, S: Sensible.	99
Tabla 10. Promedios en mm de la evaluación de actividad antimicrobiana de fitoextractos hidroetanólicos mediante el método de difusión en agar con la técnica de Kirby-Bauer modificado. NA: Sin actividad (0 mm).	100
Tabla 11. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en mg/mL de los extractos frente a las bacterias sensibles a los extractos del método de difusión. ND: no determinado.	109
Tabla 12. Compuestos encontrados en el extracto de etanol de la planta de <i>Artemisia annua</i> L. mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).	114
Tabla 13. Compuestos encontrados en el extracto de cloroformo de la planta de <i>Artemisia annua</i> L. mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).	120
Tabla 14. Compuestos encontrados en el extracto de hexano de la planta de <i>Artemisia annua</i> L. mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).	126
Tabla 15. Compuestos encontrados en el extracto etanólico de la planta de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).	130
Tabla 16. Compuestos encontrados en el extracto de cloroformo de la planta de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).	135
Tabla 17. Compuestos encontrados en el extracto de hexano de la planta de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).	141
Tabla 18. Compuestos encontrados en el extracto etanólico de la planta de <i>Paronychia argentea</i> Lam., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).	145
Tabla 19. Compuestos encontrados en el extracto de cloroformo de la planta de <i>Paronychia argentea</i> Lam., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).	149
Tabla 20. Compuestos encontrados en el extracto de hexano de la planta de <i>Paronychia argentea</i> Lam., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).	155

Resumen

En la actualidad, alrededor del 80% de la población recurre a la medicina tradicional como su principal forma de atención médica, debido a la baja incidencia de presentar efectos adversos. No obstante, el incremento de las infecciones bacterianas derivadas de la resistencia antimicrobiana constituye una amenaza para la salud pública. Ante este panorama, ha surgido la necesidad de explorar alternativas terapéuticas, en particular agentes antimicrobianos de origen natural derivados de extractos vegetales, frente a patógenos de relevancia clínica.

El objetivo de la presente investigación es determinar la actividad antibacteriana de los extractos de las plantas *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L., y *Paronychia argentea* Lam. frente a bacterias de importancia clínica. La metodología incluyó la adquisición de plantas, secado, molienda, preparación de los extractos de hidroetanol, etanol, hexano y cloroformo en maceración y extracción asistida por ultrasonido (EAU). Las pruebas antimicrobianas se realizaron únicamente con los extractos hidroetanólicos según las indicaciones de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024). El análisis fitoquímico se determinó con los extractos de etanol, hexano y cloroformo. Los microorganismos utilizados fueron *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Staphylococcus aureus*.

En los ensayos de susceptibilidad antimicrobiana se encontró que los extractos presentan diversos efectos de inhibición frente a los microorganismos de estudio, siendo el más eficaz *H. sabdariffa* L. Los cromatogramas permitieron comprobar la presencia de compuestos fenólicos como flavonoides y taninos, terpenoides y alcaloides que han sido reportados con actividad antimicrobiana. Estos resultados podrían contribuir al desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas basadas en los fitocompuestos identificados.

Se puede concluir que los extractos vegetales estudiados podrían ser una alternativa de tratamiento para infecciones bacterianas, podrían actuar en sinergia con los antibióticos convencionales, mejorando la actividad antibacteriana y reduciendo potencialmente la cantidad del antibiótico que se requiere para tratar las infecciones bacterianas.

Introducción

Para garantizar un futuro saludable y sostenible, es importante controlar las infecciones causadas por los microorganismos de importancia clínica. En los últimos años, las investigaciones científicas han priorizado la búsqueda y desarrollo de nuevas terapias antimicrobianas como opciones alternas a los tratamientos con antibióticos conocidos, debido al aumento de la resistencia que exhiben los patógenos microbianos en todo el mundo.

Actualmente, las terapias basadas en plantas han atraído una atención significativa. Por ende, se han estudiado varias plantas medicinales, que son utilizadas en la medicina tradicional y alternativa, ya que representan un sistema vegetal valioso que exhiben propiedades medicinales. Partes de las plantas como son las hojas, flores, tallos, frutos y raíces contienen compuestos activos que inducen efectos terapéuticos y se utilizan como agentes medicinales. La etnobotánica es una disciplina científica que estudia las interrelaciones entre el hombre primitivo con las plantas, dedicada a documentar y analizar el conocimiento botánico. La fitoterapia consiste en el uso de productos de origen vegetal con propiedades medicinales respaldados por una evidencia científica, para la prevención y el tratamiento de enfermedades. Su principal ámbito de aplicación son las afecciones leves y moderadas, así como las enfermedades crónicas. Las plantas medicinales han sido utilizadas por la sociedad desde tiempos ancestrales, contribuyendo al bienestar y ayudando a reducir la incidencia de enfermedades, incluidas las epidemias. No obstante, el enfoque principal de la etnobotánica es documentar y preservar el conocimiento de la medicina tradicional, así como los agentes terapéuticos presentes en las plantas. Las plantas medicinales han recibido una atención creciente en los últimos años debido a que sus efectos secundarios son significativamente menores a los ocasionados por fármacos sintéticos.

Artemisia annua L. es una planta anual reconocida como “ajenjo dulce” o “ajenjo anual”, es miembro de la familia Asteraceae que presenta un valor medicinal. Presenta propiedades antipalúdicas, antiinflamatorias, antibacterianas y anticancerígenas. Así mismo, se ha demostrado que el aceite fundamental es antibacteriano contra una amplia variedad de bacterias gramnegativas y grampositivas en experimentos.

Hibiscus sabdariffa L., también conocida como “roselle” o “jamaica”, es una planta perenne de la familia Malvaceae. Su extracto muestra actividades biológicas, que incluyen

propiedades antioxidantes, antihipertensivas, antidiabéticas y antibacterianas. Contiene compuestos bioactivos como polifenoles, flavonoides y antocianinas que confieren los efectos terapéuticos.

Paronychia argentea Lam., es una planta silvestre que pertenece a la familia Caryophyllaceae, es conocida comúnmente como “té árabe” o “sanguinaria”. Su extracto tiene actividades antioxidantes, antimicrobianas y nefroprotectoras. Un análisis demostró diferentes compuestos fitoquímicos bioactivos como flavonoides, ácido vainílico, luteolina y quercetina.

La presente investigación busca establecer el efecto y la posible actividad antimicrobiana de los extractos obtenidos a partir de *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L., *Paronychia argentea* Lam. con potencial antimicrobiano frente a seis bacterias de importancia clínica en México, mediante pruebas de susceptibilidad con método fenotípico y perfil fitoquímico.

Marco teórico

Historia de las plantas medicinales

Las plantas medicinales son un sistema vegetal beneficioso, ya que proporcionan alimento, ropa, refugio, forraje, combustible, madera y propósitos medicinales que son indispensables para la biodiversidad y la sociedad humana; realizan acciones sinérgicas debido a la presencia de compuestos bioactivos para el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades, incluidas las epidemias. Las plantas medicinales se han utilizado en la atención médica desde la antigüedad en países como India, Egipto, China, Grecia y México (Raj & Jhariya, 2024).

La medicina tradicional es un conjunto de prácticas de salud, enfoques, conocimientos y creencias en medicinas basadas en el uso de plantas, animales y minerales, así como de terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios, con la finalidad de tratar, diagnosticar y prevenir enfermedades y promover el bienestar de los pacientes (Mekonnen *et al.*, 2022).

Las plantas medicinales que contienen agentes terapéuticos han sido utilizadas en la atención sanitaria para tratar enfermedades humanas y, en la actualidad continúan siendo una valiosa fuente para la identificación y el desarrollo de nuevos fármacos (Hussain *et al.*, 2019). La evidencia más antigua de su uso en la elaboración de remedios se encuentra en una tablilla de arcilla sumeria descubierta en Nagpur que data de hace 5,000 años, la tablilla contenía 12

fórmulas para la producción de fármacos, mencionando más de 250 plantas, incluidas algunas ricas en alcaloides como la amapola, el beleño y la mandrágora (Balkrishna *et al.*, 2024).

Origen de la etnobotánica

Desde una perspectiva científica, la etnobotánica surgió como resultado de la coevolución de la botánica y la antropología a lo largo de los siglos XVIII y XIX. No obstante, en el siglo XX se convirtió en un campo de estudio (Camou *et al.*, 2016). Harshberger en 1896 acuñó por primera vez el término etnobotánica y lo definió como “el estudio de las interrelaciones del hombre primitivo con las plantas” (Harshberger, 1896).

Hoy en día, la etnobotánica se define como una disciplina científica dedicada a documentar, analizar y comprender el conocimiento botánico que poseen los diferentes grupos culturales que habitan el planeta. Examina sus creencias y cosmovisiones en relación al mundo vegetal, así como las interacciones y prácticas que establecen con las plantas para aprovechar sus múltiples beneficios (Camou *et al.*, 2016).

Uno de los objetivos de los etnobotánicos es explorar la importancia de las plantas. Por ende, los estudios etnobotánicos son útiles para identificar, difundir y documentar el conocimiento de diversas sociedades y la aplicación de la diversidad vegetal para las enfermedades humanas. El conocimiento etnobotánico es de suma importancia ya que comprende tanto las plantas silvestres como las domesticadas (Hussain *et al.*, 2019; Mekonnen *et al.*, 2022).

Composición fitoquímica y usos terapéuticos de las plantas medicinales

Diversas partes de las plantas, como son las hojas, raíces, corteza del tallo, frutos, flores e incluso la planta completa, pueden ser utilizadas en la elaboración de medicamentos debido a que estas estructuras contienen compuestos bioactivos también conocidos como fitoquímicos que generan efectos terapéuticos, de forma directa e indirecta, y se utilizan como agentes medicinales (Raj & Jhariya, 2024).

En función de su papel en el metabolismo, los compuestos orgánicos presentes en las plantas se dividen en dos grupos: metabolitos primarios y secundarios. Los primarios son moléculas que participan en las vías biosintéticas de componentes esenciales de las células vivas, como los aminoácidos en las proteínas, los nucleótidos en los ácidos nucleicos, los azúcares como

recurso energético y los polisacáridos o los fosfolípidos como constituyentes principales de las membranas celulares (Rajčević *et al.*, 2022).

Los metabolitos secundarios, también conocidos como metabolitos especializados debido a que poseen una gran variedad de funciones específicas diferentes. Éstos se pueden clasificar principalmente en tres grupos mayoritarios: los terpenoides, los alcaloides y los fenólicos. Los terpenoides son compuestos no polares que forman parte de mezclas complejas y volátiles llamadas aceites esenciales (AE) u oleorresinas, y se pueden clasificar en función del número de unidades de isopreno que poseen. Desempeñan un papel importante en las interacciones entre las plantas y el medio ambiente, protegiendo a las plantas de infecciones causadas por microorganismos. Los alcaloides son compuestos orgánicos nitrogenados heterocíclicos solubles en agua con sabor amargo, que protegen a las plantas de los herbívoros. Los fenólicos se pueden dividir en varios grupos: flavonoides, taninos y cumarinas. Los flavonoides son compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzo- γ -pirano, los taninos son fenólicos poliméricos con propiedades astringentes, y las cumarinas son un grupo de benzopironas aromáticas (Rajčević *et al.*, 2022).

Las plantas pueden contener una amplia variedad de fitoquímicos como los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, cumarinas, quinonas, lignanos y ligninas, flavonoides, isoflavonoides, estilbenos, y polifenoles como los taninos), terpenos como los terpenoides, alcaloides, esteroides, y saponinas, representados en la figura 1 (Peñarrieta *et al.*, 2014; Sánchez, F., 2022; Socorro, J., 2022). Los componentes fitoquímicos inducen poder medicinal en diversas plantas que también promueven significativamente diferentes acciones farmacológicas en el cuerpo humano (figura 2). Estas sustancias presentan beneficios para la salud, como son los efectos antimicrobianos, antioxidantes, antiinflamatorios, anticancerígenos, etc (Yao *et al.*, 2023; Raj & Jhariya, 2024).

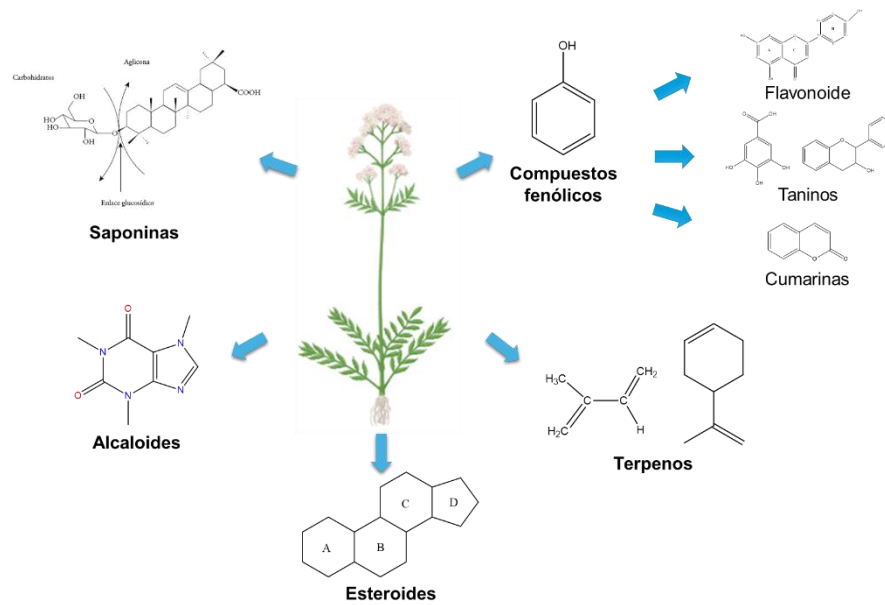


Figura 1. Representación de los fitocompuestos presentes en las plantas. Elaboración propia.

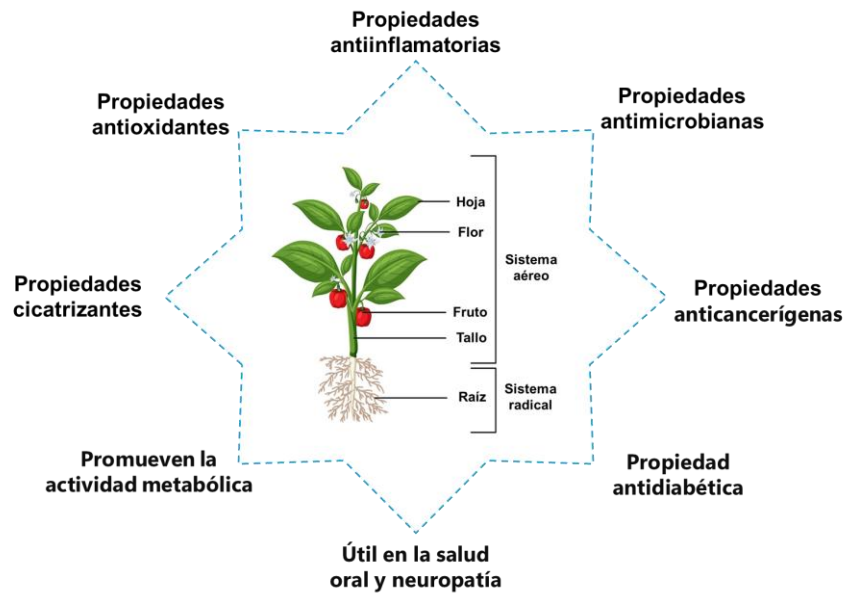


Figura 2. Propiedades terapéuticas de los fitoquímicos presentes en las plantas. Elaboración propia.

Se ha comprobado que una sola especie puede ser capaz de producir diferentes compuestos bioactivos, lo que pone de manifiesto la complejidad y riqueza bioquímica de la flora de México. La efectividad de las plantas medicinales radica en sus compuestos fitoquímicos,

cuya concentración y producción varían según la especie, etapa fenológica y estructuras de la planta, así como a los factores bióticos y abióticos (Cupido *et al.*, 2024).

En los sistemas de medicina tradicional, diferentes partes de las plantas medicinales silvestres han sido utilizadas durante siglos, su principal característica es que sus efectos secundarios son significativamente menores a los ocasionados por fármacos sintéticos (Ajaib *et al.*, 2010).

Etnobotánica en México

México posee una amplia cultura etnobotánica, destacando su herbolaria como una de las más diversas del mundo gracias a la riqueza vegetal y cultural que han convergido desde tiempos prehispánicos en nuestro territorio. Se estima que existen 23,400 plantas vasculares, de las cuales 3,000 poseen efectos medicinales (Josabad *et al.*, 2017). De esta manera, la enorme diversidad biológica y cultura de México brinda un excelente escenario para el estudio de prácticas bioculturales que han sido clave para el descubrimiento de compuestos bioactivos (Cupido *et al.*, 2024).

En la época actual en México, millones de personas tanto de zonas urbanas como rurales utilizan la medicina tradicional debido al limitado acceso a servicios de salud. A su vez, las culturas originarias o indígenas que permanecen hoy en día continúan dependiendo en gran medida de las plantas medicinales para tratar y prevenir una variedad de enfermedades o síntomas. De tal forma, que se integra un sistema dinámico de generación y aplicación de conocimientos de cada cultura presente en el país, heredado por generaciones mediante la transmisión oral, formando parte de su memoria colectiva y que representan su patrimonio biocultural (Cupido *et al.*, 2024).

A continuación, se mencionan algunos ejemplos de plantas fitoterapéuticas.

Planta de ajenjo dulce (*Artemisia annua* L.)

Taxonomía

- ◇ **Reino:** Vegetal
- ◇ **Subreino:** Plantae
- ◇ **División:** Magnoliophyta
- ◇ **Clase:** Magnoliopsida
- ◇ **Familia:** Asteraceae
- ◇ **Género:** *Artemisia*
- ◇ **Nombre científico:** *Artemisia annua* L.
- ◇ **Nombre común:** ajenjo dulce



Figura 3. Flores, hojas y ramas de *Artemisia annua* L. (Bernatoniene *et al.*, 2024).

Etimología

Artemisia annua L., también conocida como “ajenjo dulce”, “ajenjo de azúcar”, “hierba de salvia de caramelo” y “ajenjo anual”, es una planta originaria de china (figura 3 y 4). Única especie del género *Artemisia* que florece anualmente y forma parte del miembro de la familia *Asteraceae* que tiene un valor medicinal muy significativo. También se le conoce como Qing Hao en chino antiguo, que se traduce como “hierba verde”. *Artemisia* es un grupo de plantas que lleva el nombre de la diosa griega Artemisa, cuyo nombre significa “la que cura la enfermedad” (Ahamd *et al.*, 2023).



Figura 4. Planta de *Artemisia annua* L. de dos meses de edad, antes de la floración (Jacobus *et al.*, 2023).

Descripción

Es una hierba o arbusto anual, muy ramificada, escasamente pilosa e intensamente aromática. Presenta tallos cilíndricos erectos de 0.2 a 0.6 cm de diámetro, de color marrón violáceo a

parduzco, acanalado, cubierto de pelos pequeños y estrechamente dispersos; ramas de 30 a 80 cm de longitud, las hojas miden 3–5 cm de largo, 2–4 cm de ancho, alveoladas, ovadas, glandulares, diferenciadas en hojas inferiores pecioladas, hojas superiores sésiles y hojas superiores bracteadas de color verde oscuro o parduzco, el arbusto puede crecer hasta 2.5 – 3.0 m de altura (Rolta *et al.*, 2021).

La inflorescencia se encuentra en panoja terminal, con flores de la cabezuela pequeñas, de 2 a 3 mm, de color amarillo, con brácteas anchas, globulares, acuminadas; el fruto es un aquenio ovoide gris, con alrededor de 0.5 mm. Las hojas y la inflorescencia poseen tricomas glandulares con alto contenido de aceite volátil, lo cual le proporciona una fragancia especial y sabor ligeramente amargo.

Distribución geográfica y requisitos ecológicos

Artemisia annua L. se encuentra de forma natural en las secciones del norte de las provincias de Sui yuan y Chahar de China. Actualmente se distribuye en las principales partes del mundo, por ejemplo, Asia, Europa y América del Norte. Se cultiva ampliamente en las regiones de las zonas subtropicales templadas y templadas frías del mundo, comúnmente en los países asiáticos en las áreas sur y suroeste (Ahamd *et al.*, 2023).

La planta crece preferible en condiciones de clima relativamente cálido y seco, la temperatura del aire óptima para su cultivo es entre 20 a 25 °C. Puede prosperar en una variedad de tipos de suelo con un pH entre 4.5 y 8.5, suelos profundos con más de 30 cm de capa arable y debe tener excelentes condiciones de drenaje.

La luz solar y los suelos bien aireados son necesarios para una mayor tasa de germinación de las semillas. *A. annua* L. no se adaptaba al trópico, porque es una planta anual de día corto, de poco más o menos 13 h luz, y que por tanto florecería de pequeño tamaño sin lograr suficiente biomasa (Soni *et al.*, 2022). Se necesita de un período óptimo de exposición a la luz para optimizar la producción de principios activos, principalmente de artemisinina. Las concentraciones más altas de artemisinina se observan durante el período de floración. El tiempo desde la siembra hasta la cosecha de esta planta es de 4.5 a 5 meses (Ekiert *et al.*, 2021).

Historia del uso de *A. annua* L.

A. annua L. se ha utilizado en la medicina tradicional china como fármaco antipirético y antipalúdico durante más de 2,000 años, se ha extendido en todo el mundo bajo diversas condiciones climáticas debido a su eficacia terapéutica contra la malaria, la tos y el resfriado, por mencionar algunos (Ekiert *et al.*, 2021).

Durante la guerra de Vietnam, los soldados norvietnamitas y el personal militar chino se vieron gravemente afectados por la malaria, por lo que enviaron una solicitud formal a los dirigentes chinos para que ayudaran a resolver el problema de la malaria. En 1972, se aisló por primera vez la artemisinina como un compuesto puro de *Artemisia annua* L. y se demostró que poseía potentes propiedades antipalúdicas. Este compuesto activo fue identificado como lactona sesquiterpénica, que se encuentra presente en los tricomas de las hojas de la planta. No obstante, las flores y las hojas de *A. annua* L. contienen el 89% de la artemisinina total cuando la planta alcanza la madurez completa (Jacobus *et al.*, 2023).

Principales componentes químicos y compuestos bioactivos

La fitoquímica de esta hierba está dominada por las lactonas sesquiterpénicas (terpenoides), las cumarinas, los flavonoides y otros metabolitos secundarios. No obstante, *Artemisia annua* L. es una fuente rica de fitocompuestos como monoterpenos, sesquiterpenos, flavonoides, compuestos alifáticos, cumarinas y aceites esenciales (Soni *et al.*, 2022), representados en la figura 5.

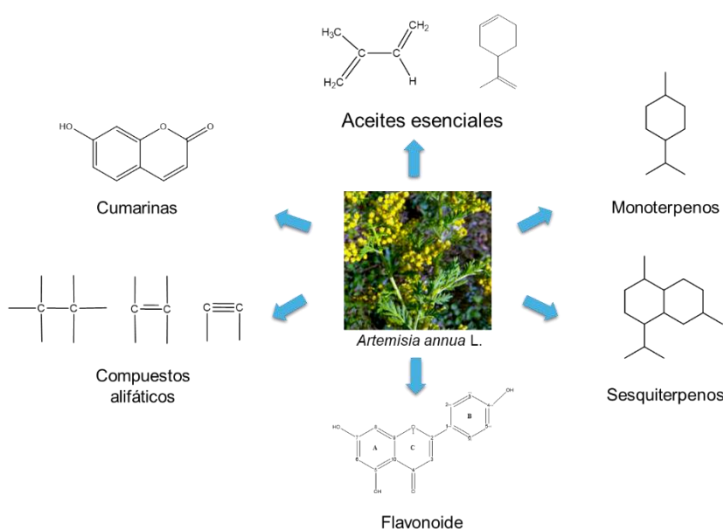


Figura 5. Representación de los fitocompuestos presentes en *Artemisia annua* L. Elaboración propia.

Los monoterpenos son los principales ingredientes del aceite esencial y son responsables del aroma potente de la planta. Los principales componentes del aceite esencial contienen canfeno, limoneno, mirtenol, α y β -pineno, borneol, alcanfor, carvona, α -terpineno y 1,8-cineol. Además de la artemisinina, se encuentran otras lactonas sesquiterpénicas en el extracto acuoso/alcohólico de *A. annua* L. como la arteannuina, el arteéter, el ácido artemisínico, la dihidroartemisinina, el artesunato y el ácido dihidroartemisínico.

Esta planta produce más de 100 tipos de compuestos químicos y su perfil de metabolitos secundarios varía con el cambio en las diferentes condiciones climáticas y geográficas. La máxima acumulación de artemisinina y ácido artemisínico (compuesto precursor) se ha reportado en tricomas glandulares presentes en la superficie de la planta (hojas y botones florales) (Soni *et al.*, 2022).

Usos fitoterapéuticos de *A. annua* L.

Actualmente, se conoce que la decocción de toda la planta de *A. annua* L. tiene múltiples propiedades terapéuticas como antipalúdica, antitumorales, antioxidantes, antihelmínticas, antibacterianas, antifúngicas, antiinflamatorias, antipiréticas, antisépticas, antiespasmódicas, carminativas y citotóxicas (Soni *et al.*, 2022; Ahamd *et al.*, 2023).

Planta de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Taxonomía

- ◇ **Reino:** Vegetal
- ◇ **Subreino:** Plantae
- ◇ **División:** Antophitas
- ◇ **Clase:** Dicotiledonea
- ◇ **Familia:** Malvaceae
- ◇ **Género:** *Hibiscus*
- ◇ **Nombre científico:** *Hibiscus sabdariffa* L.
- ◇ **Nombre común:** jamaica



Figura 6. Hojas y cáliz de *Hibiscus sabdariffa* L. (Gweyi *et al.*, 2021).

Etimología

Hibiscus sabdariffa L. también conocida como “jamaica”, “rosa de jamaica”, “rosa de abisinia”, “acedera roja”, “acedera india”, “rosella o roselle”, pertenece a la familia de las malváceas originaria de África tropical. El género *Hibiscus* incluye más de 300 especies de hierbas, arbustos y árboles anuales o perennes. Las especies de este género se destacan a menudo por sus vistosas flores y se las conoce comúnmente como hibisco o malva rosa (figura 6 y 7).



Figura 7. Planta de *Hibiscus sabdariffa* L. (Pande & Kannan, 2025).

Descripción

Es una planta herbácea anual, que se puede cultivar en climas secos y subtropicales de todo el mundo. El crecimiento de esta planta posee un sistema radicular bien desarrollado y profundo, presenta tallos lisos y abundantes que se encuentran muy ramificados y de corteza color rojo, crece hasta alcanzar 3 m de altura. Sus hojas más bajas son ovaladas y verdes y, las hojas superiores son tri o pentalobuladas alternas en el tallo (SADER, 2021).

Las flores son asilares o en racimos terminales, los pétalos son de color blanco con un centro rojizo en la base de la columna estaminal. La inflorescencia se presenta solitaria en las axilas de las hojas, respecto al tamaño miden aproximadamente de 6 a 12 cm de ancho. Su fruto es una cápsula ovoide de cinco lóbulos, recubierta por un cáliz carnoso, rojo intenso y rico en ácido málico, conteniendo alrededor de 20 semillas, (figura 8) (Pérez, 2018).

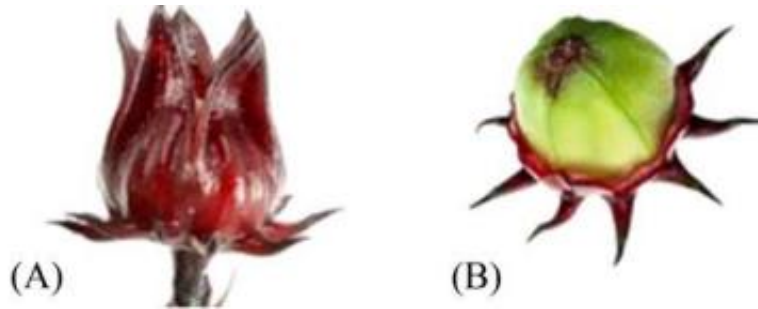


Figura 8. Fruto maduro de *Hibiscus sabdariffa*: (A) los cálices carnosos; (B) cápsula de semillas verdes (Gweyi *et al.*, 2021).

Hibiscus sabdariffa L. es una planta que produce un cáliz comestible, su sabor único y su color rojo brillante hacen que tenga un alto valor como producto alimenticio. Los productos comunes derivados incluyen medicina herbaria, alimentos como salsas y ensaladas a partir del cáliz, bebidas, gelatinas, perfumes, mantequilla, postres, entre otros (Abdalbasit *et al.*, 2021; Leyva *et al.*, 2024).

Distribución geográfica y requisitos ecológicos

Esta planta crece en climas tropicales y subtropicales con lluvia estacional. Se cultiva ampliamente en diversas regiones del mundo, como México, América Central, Egipto, China, Tailandia, Taiwán, Vietnam, Sudán, entre otras. El cultivo requiere 4-8 meses con temperaturas nocturnas de 21°C y más, pero no soporta daños por heladas y niebla, y el rango de temperatura durante la estación de crecimiento debe estar entre 10 y 35°C (Pérez, 2018; Abdalbasit *et al.*, 2021).

Durante las etapas de desarrollo vegetativo y floración, el rango de temperatura óptimo es de 22 a 36°C. La planta requiere de un fotoperiodo de 12 horas luz, se desarrolla en suelos profundos, permeables y fértiles, con una textura franco-arenosa con materia orgánica moderada y se puede establecer en suelos de pH de 5.5 a 7.5 (Montiel *et al.*, 2021).

El cultivo de jamaica requiere un abastecimiento pluvial de 5 a 10 pulgadas durante los primeros meses de crecimiento, los periodos secos son deseables para los últimos meses de desarrollo.

Historia del uso de *H. sabdariffa* L.

El olor característico de la jamaica se debe a la presencia de compuestos volátiles. Un estudio realizado en 1992 demostró que la planta de *roselle* contiene más de 25 compuestos volátiles.

Posteriormente, se identificaron alrededor de 37 compuestos volátiles en extractos de *roselle*, entre estos derivados de azúcar, derivados de ácidos grasos, terpenos, derivados fenólicos y compuestos diversos (Gweyi *et al.*, 2021).

Principales componentes químicos y compuestos bioactivos

Esta planta es rica en fibra dietética y contiene altas cantidades de compuestos bioactivos o fitoquímicos, incluyendo ácidos orgánicos (ácido hidroxicítrico, ácido de hibisco, ácido cítrico, ácido málico y ácidos tartáricos), antocianinas (delfinidina 3-sambubiósido y cianidina-3-sambubiósido), ácidos fenólicos (ácido protocateico y ácido cafeico), flavonoides (galato de epigallocatequina y catequina), y compuestos volátiles (3-metilbutan-1-ol, fenilacetaldehído y ácido acético) (Gweyi *et al.*, 2021).

La variedad verde de este cultivo es rica en vitamina C, riboflavina, β -caroteno y elementos minerales como hierro y magnesio. Los cálices contienen altas cantidades de antocianinas como cianidina, cianidina-3-sambubiósido, delfinidina, delfinidina-3-sambubiósido y malvidina (Abdalbasit *et al.*, 2021).

Usos fitoterapéuticos de *H. sabdariffa* L.

Los compuestos fenólicos que son extraídos de los hibiscos se utilizan de diversas formas, como antioxidantes, hiperlipidemiantes, son eficientes contra las lipoproteínas de baja densidad, aunque son muy sensibles al oxígeno, temperaturas extremas y la luz ultravioleta (UV) (Abdalbasit *et al.*, 2021).

Las antocianinas, estructura química representada en la figura 9, son compuestos altamente bio-reactivos y se ha demostrado que la ingesta de infusiones o tés de los cálices de *H. sabdariffa* L. tiene efectos positivos en la salud de los consumidores debido a que se han utilizado para tratar varias enfermedades, entre ellas la fiebre, infecciones microbianas, diabetes, la hipertensión arterial, el estreñimiento, el cáncer, las enfermedades cardíacas, las infecciones del tracto urinario y trastornos hepáticos (Gweyi *et al.*, 2021).

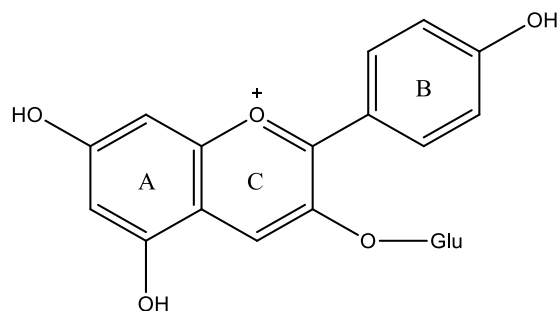


Figura 9. Estructura química general de las antocianinas. Elaboración propia.

Planta de sanguinaria (*Paronychia argentea* Lam.)

Taxonomía

- ◇ **Reino:** Vegetal
- ◇ **Subreino:** Plantae
- ◇ **División:** Angiospermae
- ◇ **Clase:** Dicotyledoneae
- ◇ **Familia:** Caryophyllaceae
- ◇ **Género:** *Paronychia*
- ◇ **Nombre científico:** *Paronychia argentea* Lam.
- ◇ **Nombre común:** sanguinaria



Figura 10. Flor de *Paronychia argentea* Lam. (Curini *et al.*, 2024).

Etimología

Paronychia argentea Lam. es una planta herbácea que fue descrita por primera vez por Jean-Baptiste Lamarck, pertenece a la familia *Caryophyllaceae* y se conoce comúnmente como “hierba de sangre”, “mermasangre”, “nevadilla”, “picapitata”, “sanguinaria”, “sanguinaria menor”, “raíz de clavo plateado”, “panadizo plateado” o “té árabe” (Kassaretlahdjer, Fettatelahdjer o Bissatelmoulouk) (Veeraraghavan *et al.*, 2020).

Es una planta perenne ampliamente distribuida en Argelia. Sin embargo, crece de forma silvestre en lugares baldíos, márgenes de campos no cultivados y fronteras de campos de países como Jordania, Siria, Egipto, Libia, España, Argelia, Portugal y México (Sait *et al.*, 2015; Alenizi *et al.*, 2020).

Descripción

P. argentea Lam. es una especie hermafrodita y la polinización se lleva a cabo a través de insectos. Se considera una planta perenne con tallos que se extienden sobre el suelo, mide de 30 – 50 cm de altura. Las hojas presentan un tamaño de hasta 2 mm de largo y 5 mm de ancho, no son pilosas, linear-lanceoladas y a veces ovadas con puntas agudas. Tiene capítulos florales laterales y terminales, densos, entremezclados con hojas. Las flores de esta planta son pequeñas y dispuestas en cabezuelas rodeadas de brácteas hialinas (figura 10 y 11). Todo el año posee hojas y las flores aparecen de julio a agosto (Belarbi *et al.*, 2014).



Figura 11. Tallos y flores de planta *Paronychia argentea* Lam. (*P. argentea* Lam.) (Sait *et al.*, 2015).

Distribución geográfica y requisitos ecológicos

El hábitat principal de la planta *P. argentea* Lam. incluye toda el área alrededor del mar Mediterráneo. Se ha reportado en lugares baldíos de montañas; Irbid, Ajloun, Jarash, Ammán, Karak, Tafila y Mafraq. También se encuentra ampliamente distribuida en Jordania, Siria, Palestina, Libia y Egipto, donde crece de forma silvestre en duras condiciones ambientales de altas temperaturas, bajas precipitaciones, altas tasas de evaporación y suelo salino (Faten *et al.*, 2020). Esta planta se desarrolla bien en suelos arenosos y arcillosos, no puede crecer a la sombra, debido a que requiere una exposición total al sol. Crece en terrenos abandonados o secos, descampados, dunas y zanjas (Veeraraghavan *et al.*, 2020).

Historia del uso de *P. argentea* Lam.

La especie *Paronychia argentea* Lam., es una planta tradicionalmente prescrita por los antiguos herbolarios, es originaria del bajo Marruecos, Egipto y la cuenca mediterránea, comúnmente conocida como té árabe. Se utilizaba en el antiguo Egipto para tratar el asma, cálculos y cólicos renales (Mechraoui *et al.*, 2021).

Principales componentes químicos y compuestos bioactivos

P. argentea Lam. contiene tocoferoles, flavonoides, fenólicos y terpenoides (Curini *et al.*, 2024). No obstante, tiene un alto contenido de flavonoides como isorhamnetina, quercetina y luteolina. El ácido fenólico más abundante encontrado en el extracto de *P. argentea* Lam. fue el ácido ferúlico (AF), un fitoquímico natural común que se encuentra en hojas y semillas.

Según Abdelkhalek en el 2021, en un análisis por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se detectaron 16 compuestos, donde se reveló que los compuestos polifenólicos más abundantes encontrados en el extracto de *P. argentea* Lam. fueron ácido gálico, kaempferol, quercetina, ácido elágico, miricetina y ácido ferúlico (Abdelkhalek *et al.*, 2021).

Así mismo en otro estudio se identificaron algunos compuestos que se describieron por primera vez en esta especie, entre ellos, isorhamnetina-3-O-dihexósido, quercetina-3-O-glucósido, quercetina-metil-éter-O-hexósido, quercetina, jaceosidina e isorhamnetina. Estos flavonoides, junto con algunos ácidos fenólicos y taninos, son responsables de los efectos terapéuticos que presenta esta planta (Arkoub *et al.*, 2020).

Usos fitoterapéuticos de *P. argentea* Lam.

La *P. argentea* Lam. se utiliza ampliamente en la medicina popular para el tratamiento de diversos trastornos, como cálculos renales, infecciones del tracto urinario, enfermedades gastrointestinales, además de resfriados y fiebre (Alenizi *et al.*, 2020).

La revisión de la literatura de *P. argentea* Lam. mostró las grandes bioactividades medicinales debido a que su extracto tiene actividades antioxidantes, antimicrobianas, nefroprotectoras, antiinflamatorio, antidiabético, etc (Veeraraghavan *et al.*, 2020).

Preparación de los especímenes para la obtención de compuestos bioactivos de origen vegetal

Técnicas de secado

Se pueden utilizar muestras frescas y secas para la extracción. Las muestras secas son preferibles porque son más duraderas y fáciles de almacenar, por otro lado, las muestras frescas se deterioran más rápido y pueden afectar la composición de las muestras. Los procesos de secado de muestras de plantas incluyen el secado al aire, el secado al horno y el secado indirecto con luz solar. El proceso que se recomienda para lograr un alto rendimiento es el secado al aire, aunque requiere mucho tiempo. Los procesos de secado al horno y con

luz solar indirecta son más rápidos, pero dan un rendimiento de extracción menor (Xiu *et al.*, 2023).

Existe otro método de secado por microondas, el cual seca la muestra empleando el principio de oscilación molecular (conservación de energía cinética en energía térmica) que se facilita mediante la radiación electromagnética. Sin embargo, esto puede degradar los fitoquímicos. El secado al aire no aplica calor como lo hacen los métodos de secado en horno y secado con luz solar, por lo que los compuestos termolábiles se pueden conservar (Xiu *et al.*, 2023).

Las muestras con un tamaño de partículas más pequeño tienen más áreas de interacción con el solvente de extracción, lo que conduce a un mejor rendimiento y eficiencia de la extracción. Por lo general, se utilizan morteros, batidoras o molinos eléctricos para moler (Xiu *et al.*, 2023).

Técnicas de extracción

Maceración

La maceración es la técnica de extracción más sencillo que se utiliza habitualmente en la industria o en el laboratorio, la cual requiere que los materiales vegetales en polvo se sumerjan en el disolvente en un recipiente tapado durante al menos 3 días a temperatura ambiente con agitación constante para garantizar que el componente soluble se disuelva en el disolvente. Este proceso se realiza con la finalidad de ablandar y romper la pared celular de la planta para liberar fitoquímicos solubles de los materiales vegetales. Una vez realizada la maceración, la mezcla se cuela y se prensa. Los líquidos se clarifican mediante filtración o decantación. El tipo de disolventes utilizados en el proceso de extracción determina el tipo de compuestos bioactivos que se extraen, en la maceración se utiliza una mezcla acuosa o mezcla de agua con etanol, por lo general el etanol al ser un producto que pueda utilizarse para la industria alimentaria (Cano, 2022).

Extracción por Soxhlet

Se utiliza comúnmente cuando la muestra sólida tiene una solubilidad limitada en el solvente y hay impurezas insolubles presentes en la muestra. Se pueden utilizar diversos disolventes con diferente polaridad para este tipo de extracción según el principio de “lo similar disuelve a lo similar”. Un disolvente altamente polar como el agua es adecuado para la extracción de flavonoides hidrófilos y ácidos hidroxicinámicos (Xiu *et al.*, 2023).

Los compuestos bioactivos de la muestra se obtienen mediante una técnica de reflujo en la que el disolvente de extracción se calienta y hierve continuamente para convertirse en vapores y condensarse nuevamente en el dedal que contiene las muestras. Es un proceso continuo que puede durar algunas horas hasta que la muestra se convierte en un sólido seco y fino (Xiu *et al.*, 2023).

Técnica por Microondas

La extracción asistida por microondas (EAM) emplea energía de radiación de microondas para facilitar la partición del analito de la matriz de muestra al solvente mediante la interacción entre los dipolos de materiales polares y polarizables (como las moléculas de agua, disolventes o muestras). El método de extracción EAM sin disolventes se utiliza para extraer compuestos volátiles, mientras que los métodos de extracción con disolventes se utilizan para compuestos no volátiles (Xiu *et al.*, 2023).

Esta técnica de extracción requiere de menos solvente y es más eficiente en términos de tiempo debido a que se produce por conducción de calor y la alta temperatura vaporiza las moléculas de agua que residen en las células vegetales. La vaporización aumenta la presión en las células vegetales y altera las paredes celulares para liberar los compuestos bioactivos (Xiu *et al.*, 2023).

Técnica por Ultrasonido

La extracción asistida por ultrasonido (EAU) o extracción por sonicación es una técnica que aplica ultrasonido a una frecuencia de 20 kHz a 2,000 kHz y se basa en el principio de la cavitación en las paredes celulares, la cual permite la generación de burbujas en el solvente y liberación de compuestos bioactivos. Específicamente, las ondas ultrasónicas de alta frecuencia alteran y aumentan la permeabilidad de las paredes celulares de las plantas para liberar los compuestos solubles y extraíbles. La extracción ultrasónica es adecuada para extraer componentes fenólicos (Xiu *et al.*, 2023).

Extracción con fluidos supercríticos (EFS)

Esta técnica es una de las tecnologías de extracción más avanzadas que se utilizan para la extracción de alimentos y productos naturales. Un fluido supercrítico posee las propiedades térmicas y físicas tanto de un gas como de un líquido cuando están en una condición en la que la temperatura y la presión se encuentran por encima de sus puntos críticos. Los fluidos

utilizados en la extracción por EFS son el dióxido de carbono (CO_2), agua, etanol, metano y acetona (Xiu *et al.*, 2023).

Durante el proceso de extracción, los componentes objetivo de la muestra de planta se disuelven primero en el fluido supercrítico a temperaturas y presiones específicas. El disolvente supercrítico provoca un efecto de hinchamiento en la estructura celular y se produce la disolución del soluto. Finalmente, la caída de presión en el sistema conduce a la separación del extracto del agente solvatante que se revierte a su forma original (Xiu *et al.*, 2023).

Técnicas de caracterización de fitocompuestos en extractos vegetales

La caracterización fitoquímica es de suma importancia para la identificación química y el análisis de los compuestos presentes en los extractos de plantas, en términos de estructura química, peso molecular, cargas superficiales, tamaño y grupos funcionales. Existen varios equipos analíticos que se encuentran involucrados en la caracterización química de los extractos, como es la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM) para la identificación de compuestos, la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR, por sus siglas en inglés) para la caracterización de grupos funcionales, Zetasizer para el análisis de carga superficial y tamaño de partícula (Xiu *et al.*, 2023).

La cromatografía es una técnica analítica que se utiliza ampliamente en los laboratorios, generalmente se clasifica en tres tipos básicos según la fase móvil utilizada: cromatografía de gases (GC), cromatografía líquida (LC) y cromatografía de fluidos supercríticos (SFC). La GC se utiliza principalmente para el análisis de sustancias orgánicas volátiles y térmicamente estables; la LC es conveniente para el análisis de sustancias no volátiles o térmicamente inestables, mientras que la SFC se emplea para separaciones de compuestos que no se pueden separar por GC o LC (Pastor *et al.*, 2023).

Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM)

La cromatografía de gases (CG) es una técnica analítica ideal para el análisis de sustancias volátiles y térmicamente estables de una mezcla. Es una técnica de cromatografía en columna, en la que la fase móvil es gas y la fase estacionaria puede ser sólida o un líquido inmovilizado sobre un soporte sólido inerte en una columna capilar o empaquetada. Se basa en las diferentes afinidades de los componentes de vapor por las superficies. La CG implica

vaporizar una muestra líquida e inyectarla en la cabeza de la columna. Bajo un gradiente de temperatura controlado, la muestra es transportada a través de la columna por el flujo de una fase móvil gaseosa inerte. Los volátiles se separan posteriormente en función de diversas propiedades, como el punto de ebullición, el tamaño molecular y la polaridad. Algunos compuestos interactúan con las superficies sólidas con mayor intensidad que otros y se ralentizan en su recorrido por la columna. La molécula con mayor afinidad hacia la fase estacionaria se retiene más tiempo, es decir, tiene mayor tiempo de retención y se eluye más lentamente. Al final de la columna hay un detector especializado que produce una señal a medida que cada compuesto sale; la intensidad de la señal es proporcional a la cantidad relativa de cada componente. Al representar gráficamente la señal en la pantalla, se obtiene un pico para cada componente de la mezcla. El patrón de picos, o "cromatograma", es reproducible para cualquier muestra, siempre que se procese por la columna de la misma manera (Jones, 2019; Xiu *et al.*, 2023; Agilent, 2024).

La cromatografía de gases (CG) puede depender de varios principios fisicoquímicos para la separación. La CG depende no solo de la adsorción, la partición o la exclusión por tamaño para la separación, sino también del punto de ebullición del analito para obtener un mayor poder de resolución (Reineccius & Qian, 2024).

La cromatografía de adsorción (líquido-sólido) usa una fase estacionaria (adsorbente) sólida que permite la interacción diferencial con los componentes de la muestra a evaluar (figura 12). Las fuerzas intermoleculares principales responsables de la adsorción cromatográfica incluyen: las fuerzas de Van der Waals, fuerzas electrostáticas, enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. El orden de elución de los compuestos de estas fases estacionarias adsorptivas (sílice o alúmina: adsorbentes polares) a menudo puede predecirse en función de sus polaridades relativas. Los compuestos con los grupos funcionales más polares se retienen con mayor fuerza en adsorbentes polares y, por lo tanto, se eluyen en último lugar. Los solutos apolares se eluyen primero. Un modelo propuesto para explicar el mecanismo de la cromatografía líquido-sólido es que las moléculas de soluto y disolvente compiten por los sitios activos en el adsorbente. Se utiliza para separar compuestos no polares aromáticos o alifáticos, carotenoides, vitaminas liposolubles.

La cromatografía de partición (líquido-líquido) utiliza una columna de material de soporte inerte finamente dividido para mantener inmóvil la fase líquida (fase estacionaria), mientras que el segundo líquido, un disolvente inmiscible (fase móvil), fluye sobre ella, proporcionando así un contacto íntimo entre ambas fases (figura 12). Los solutos se reparten entre las dos fases líquidas según sus coeficientes de partición, de ahí el nombre de cromatografía de partición. Las sustancias polares hidrófilas, como los aminoácidos, los carbohidratos y los pigmentos vegetales hidrosolubles, suelen separarse mediante cromatografía de partición de fase normal.

La cromatografía de exclusión por tamaño (SEC) o exclusión molecular utiliza una fase estacionaria que consiste en un material de relleno de columna que contiene poros de tamaño comparable al de las moléculas a fraccionar. Los solutos demasiado grandes para entrar en los poros viajan con la fase móvil en el espacio intersticial (entre partículas) fuera de los poros (figura 12). Por lo tanto, las moléculas más grandes se eluyen primero. En el sistema SEC ideal, las moléculas se separan únicamente en función de su tamaño; no se produce interacción entre los solutos y la fase estacionaria. En caso de que se produzcan interacciones soluto/soporte, el método de separación se denomina SEC no ideal.

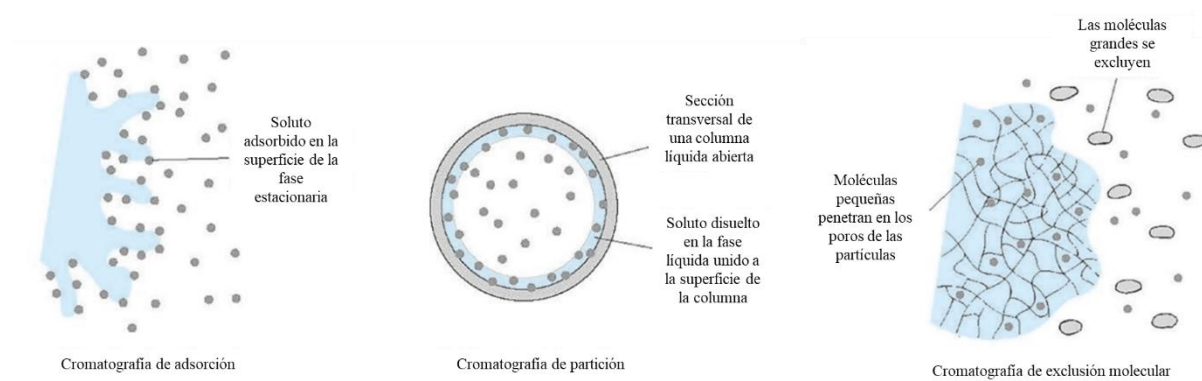


Figura 12. Principios fisicoquímicos de la cromatografía (Reineccius & Qian, 2024).

La espectrometría de masas (EM) es una técnica analítica compleja que separa los componentes de la muestra en función de su masa y carga eléctrica. Se utiliza para realizar análisis químicos cuantitativos y cualitativos de compuestos de la muestra. La EM se utiliza para identificar compuestos desconocidos mediante la estimación de su peso molecular, la cuantificación de los compuestos reconocidos y el descifrado de las características estructurales y químicas de los componentes moleculares. La espectrometría de masas

produce un espectro de masas, que es una representación gráfica de la relación masa-carga (m/z) de los compuestos en la muestra, junto con la abundancia relativa de iones individuales (Kuril, 2024). El principio básico de la EM consta de los siguientes pasos (Kuril, 2024):

- Ionización: La muestra se ioniza en la cámara de ionización, convirtiendo las moléculas neutras en iones cargados. La ionización es un proceso de producción de iones en fase gaseosa para el análisis de masas. La muestra inicial (sólida, líquida o gaseosa) se evapora a gas antes de ser ionizado por una fuente de iones. Esto se logra perdiendo un electrón y formando un catión con carga +1. Para evitar que las moléculas ionizadas interactúen con las moléculas de aire, la cámara de ionización se mantiene hermética al vacío.
- Aceleración: Los iones se aceleran mediante un campo eléctrico y se enfocan en un haz.
- Desviación: El haz de iones atraviesa campos eléctricos o magnéticos, lo que provoca que los iones se desvíen según su relación m/z . Los iones más ligeros se desvían más que los más pesados.
- Detección: Los iones desviados llegan al detector, que registra sus abundancias y genera un espectro de masas.
- Procesamiento de datos: El espectro de masas muestra las abundancias relativas de los iones graficadas en función de su relación m/z , lo que proporciona información sobre los pesos moleculares y las estructuras de los componentes de la muestra.

La cromatografía de gases combinada con espectrometría de masas (CG/EM) fue aplicada por primera vez en 1957 por Holmes y Morrell (Pastor *et al.*, 2023).

La CG/EM combina dos herramientas analíticas que se utilizan para identificar los componentes químicos y caracterizar su cantidad o porcentaje en la composición en un extracto. El porcentaje de composición se calcula comparando el área pico promedio con las áreas totales. Esta nueva técnica resultó revolucionaria ya que se combina la capacidad de la CG para separar los componentes de una mezcla en el tiempo con la capacidad de la EM de proporcionar información que ayuda a la identificación estructural de cada componente (Jones, 2019; Xiu *et al.*, 2023). El campo de aplicación de la CG/EM se limita a sustancias que son lo suficientemente volátiles como para ser analizadas por CG (Pastor *et al.*, 2023).

Las partes de un sistema de CG/EM incluyen: una fuente de gas portador (fase móvil), una entrada utilizada para entregar la muestra vaporizada a la cabeza de la columna, una columna de separación dentro de un horno de temperatura controlada, una interfaz o línea de transferencia (conexión GC/MS), una fuente de iones, un analizador de masas, un detector de iones, un sistema de bombeo de vacío y un procesador de datos, el esquema de una instrumentación CG/EM se visualiza en la figura 13.

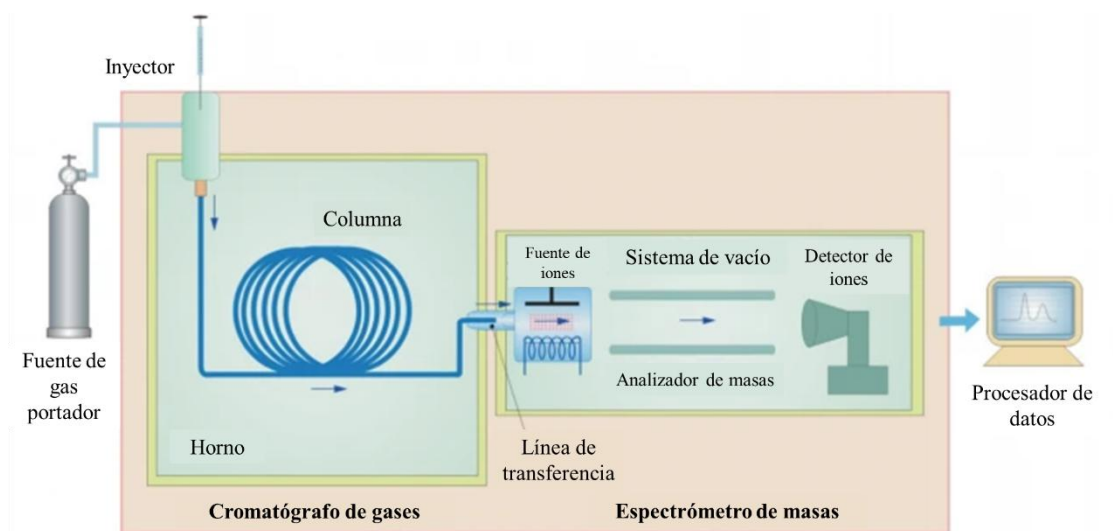


Figura 13. Esquema de una instrumentación CG/EM (Pastor *et al.*, 2023).

A continuación, se describen los componentes que conforman un sistema de CG/EM (Pastor *et al.*, 2023; Reineccius & Qian, 2024):

- *Gas portador*: sirve como fase móvil, mueve una muestra desde una entrada a través de una columna cromatográfica hasta un detector. Los gases portadores comúnmente utilizados para CG/EM son helio o hidrógeno. La velocidad donde se alcanza la máxima eficiencia de separación depende del gas utilizado porque el coeficiente de difusión está relacionado con la viscosidad del gas. Por lo tanto, el hidrógeno como fase móvil alcanza la máxima eficiencia de separación a una velocidad de fase móvil más alta que el helio y, por ende, permite un tiempo de análisis más corto.
- *Sistema de entrada*: es un sistema para introducir las muestras en la columna de cromatografía capilar. Además de su función como entrada de la muestra, necesita vaporizar la muestra, mezclarla con el gas portador y transportarla a la columna, manteniendo la composición idéntica a la de la muestra original. La muestra se

introduce utilizando una microjeringa de vidrio convencional con agujas de acero inoxidable.

- *Horno*: sistema de horno controlado termostáticamente, que mantiene la temperatura de la columna entre 40 y 450°C. Los líquidos deben convertirse a un estado gaseoso y luego mantenerse en ese estado durante todo el análisis de CG para poder analizarse en este equipo.
- *Columnas*: son tubos largos y delgados de vidrio o metal, con una fase estacionaria adherida a su superficie interior. Las longitudes más comunes utilizadas para aplicaciones de CG/EM son entre 25 y 60 m. Se clasifican en columnas empaquetadas usualmente hechas de acero inoxidable o vidrio con una longitud de 0.5 a 5.0 m., están rellenas con un material granular consistente de un sólido poroso recubierto en algunos casos con un líquido de alta densidad, y columnas capilares que consisten en un tubo de sílice fundida con diámetro muy pequeño y longitudes entre 5 y 100 m., cuya superficie interior se encuentra recubierta de una fase estacionaria a base de polisiloxano (-Si-O-Si-).
- *Interfaz CG/EM*: tubo metálico calentado equipado con un controlador de temperatura (250-270°C) para evitar la adsorción o condensación de los componentes separados de la muestra que eluyen al final de la columna cromatográfica. Su función es transferir tantos analitos como sea posible al espectrómetro de masas, sin poner en peligro el vacío requerido para una ionización óptima y el análisis de masas.
- *Fuente de iones*: proporciona suficiente energía para ionizar las moléculas del analito. La ionización electrónica (IE) y la ionización química (CI) son las técnicas de ionización más utilizadas.
- *Analizadores de masas*: Tras la formación de iones, estos se separan según su relación masa-carga (m/z). La carga de los iones representada con z suele tener un valor de 1, ya sea positivo o negativo. Por ello, la relación m/z suele considerarse una masa, m . El espectro de masas de un analito es una representación gráfica bidimensional de la distribución de iones, que se separan y detectan según sus valores de m/z . Existen varios tipos de analizadores: cuadrupolo (Q), trampa de iones (IT), sector magnético (MS), tiempo de vuelo (TOF) y el más reciente, el analizador de masas orbitrap (OT)

- *Detector de iones*: Después de separar las especies iónicas en un analizador de masas, es necesario determinarlas cuantitativamente. La función del detector es convertir la energía iónica en una señal eléctrica proporcional a la cantidad de iones detectados. Cuando un ion llega al detector, la energía de impacto del ion provoca la emisión de partículas secundarias (electrones o fotones). La detección consiste en medir la abundancia obtenida como una corriente iónica total.

La GC se ha utilizado para la determinación de ácidos grasos, triglicéridos, colesterol y otros esteroides, gases, análisis de disolventes, agua, alcoholes y azúcares simples, así como oligosacáridos, aminoácidos y péptidos, vitaminas, pesticidas, herbicidas, aditivos alimentarios, antioxidantes, nitrosaminas, bifenilos policlorados (PCB), fármacos y muchos más (Reineccius & Qian, 2024).

Métodos para las pruebas antimicrobianas

Las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (AST, por sus siglas en inglés) son una función crítica del laboratorio de microbiología clínica y su objetivo principal es verificar la eficacia de un fármaco antimicrobiano o producto natural para maximizar el mejor régimen de dosis del fármaco (Salam *et al.*, 2023; Wenzler *et al.*, 2023).

El desarrollo del uso de extractos de plantas como agente antimicrobiano ha ganado más interés en diferentes industrias. Por ende, son esenciales los métodos de detección y evaluación de las actividades antimicrobianas de los materiales vegetales.

Los bioensayos incluyen métodos fenotípicos convencionales de difusión (por ejemplo, disco o pocillo) y dilución (por ejemplo, caldo o agar), que son los métodos de laboratorio más utilizados para evaluar la actividad antimicrobiana (Salam *et al.*, 2023; Xiu *et al.*, 2023). Por otro lado, existen los métodos genotípicos que son métodos moleculares, incluida la secuenciación del genoma completo (Wenzler *et al.*, 2023).

Es importante que los enfoques de prueba, las técnicas de preparación y tamaño del inóculo, el medio de crecimiento, las condiciones de incubación y la determinación de los puntos finales, se estandaricen internacionalmente para que se empleen pautas de consenso de laboratorio y los resultados se puedan comparar fácilmente. El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) ha recomendado diferentes tipos de medios de cultivo y

condiciones de incubación (temperatura y tiempo) para lograr el estándar de 0.5 McFarland (1.5×10^8 Unidades Formadoras de Colonias UFC/mL) de tamaño de inóculo microbiano para diferentes pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (CLSI, 2024; Webber *et al.*, 2022). Las bacterias generan una dispersión de luz más efectiva en longitudes de onda alrededor de 600 nm. No obstante, se pueden utilizar mediciones entre 600 – 700 nm. El medio de crecimiento bacteriano, como el caldo nutritivo, exhibe una absorbancia mínima a 600 nm (el color amarillento del medio de cultivo indica una fuerte absorción alrededor de 430 – 480 nm), por lo que se reduce el ruido de fondo y mejora la precisión en las mediciones de la concentración bacteriana (Wacogne *et al.*, 2024). En la figura 14 se representa la forma en que se lleva a cabo la preparación del inóculo microbiano de McFarland.

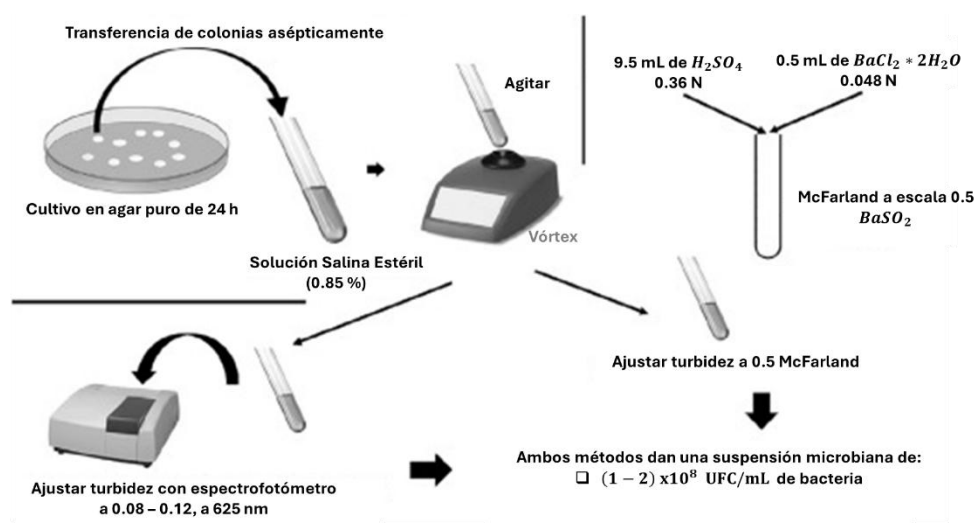


Figura 14. Preparación del inóculo microbiano de McFarland mediante la suspensión directa de colonias según lo recomendado por las directrices del CLSI (Balouiri *et al.*, 2016). Modificado.

Métodos de difusión

El método de difusión en agar se introdujo por primera vez en 1940 para medir la susceptibilidad a los antimicrobianos. Se puede clasificar en dos métodos: difusión en disco y difusión en pocillos. Estos métodos se consideran fenotípicos clásicos y convencionales debido a que son simples, reproducibles, confiables y rentables para analizar gran variedad de microorganismos (Salam *et al.*, 2023; Xiu *et al.*, 2023).

Los métodos de difusión se utilizan comúnmente para el cribado antimicrobiano de extractos de plantas, aceites esenciales, metabolitos secundarios y moléculas sintetizadas (Balouiri

et al., 2016). Los agentes antimicrobianos se difundirán en el agar e inhibirán la germinación y el crecimiento del microorganismo de prueba. Cuando las zonas de inhibición son más grandes significa que mejor será el efecto inhibitor de los agentes antimicrobianos. El diámetro de las zonas de inhibición se puede comparar con los estándares para evaluar la eficacia de la actividad antimicrobiana de los compuestos (Xiu *et al.*, 2023).

También se consideran como métodos cualitativos sin CIM (concentración inhibitoria mínima) ya que permiten analizar la susceptibilidad de los microorganismos mediante criterios interpretativos, generan una zona de inhibición del crecimiento bacteriano, que se mide en milímetros (mm) y se traduce a una categoría interpretativa basada en el punto de corte, que se encuentran disponibles en el CLSI o EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). Los criterios interpretativos se dividen en tres categorías: susceptibles, intermedios o resistentes (Bauer *et al.*, 1966; Webber *et al.*, 2022; Wenzler *et al.*, 2023).

Estas categorías clínicas han sido definidas en función de la probabilidad del éxito o del fracaso terapéutico, y de los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) o diámetro de zona generados por la prueba de susceptibilidad (Cantón, 2010; CLSI, 2024):

- *Susceptible (S)*: se refiere a un aislado bacteriano que es inhibido *in vitro* por una determinada concentración del agente antimicrobiano, se asocia a una eficacia clínica probable. Categoría definida por un punto de corte que implica que los aislados con una CMI igual o por debajo, o un diámetro de zona igual o superior al punto de corte susceptible son inhibidos. Se utiliza un régimen de dosificación estándar del agente.
- *Intermedio (I)*: describe a un aislado bacteriano que es inhibido *in vitro* por una concentración del agente antimicrobiano que puede asociarse a un efecto terapéutico incierto, dependiendo de factores como la dosis del fármaco o la concentración en el sitio de infección. Categoría definida por un punto de corte que incluye aislamientos con CMI o diámetros de zona dentro del rango intermedio.
- *Resistente (R)*: hace referencia a un aislado bacteriano que no es inhibido *in vitro* por una determinada concentración del agente antimicrobiano y se asocia a una alta probabilidad de fracaso terapéutico. Categoría definida por un punto de corte que

implica que los aislamientos con una CMI igual o superior o un diámetro de zona igual o inferior al punto de corte resistente no son inhibidos.

Método de difusión en disco de agar

El método de difusión en disco de agar es una técnica estandarizada para la evaluación del crecimiento de patógenos por Bauer *et al*, 1966. También es conocido como la difusión en disco de Kirby-Bauer, es el primer tipo de método de susceptibilidad que se autoriza y está disponible para su uso en los laboratorios de microbiología clínica.

El CLSI especifica que el inóculo para la prueba de difusión en disco (estándar de 0.5 McFarland a partir de una suspensión directa de colonias) debe prepararse a partir de colonias en una placa de agar no selectiva que se hayan incubado durante 18 a 24 h (CLSI, 2024).

Para este método, primero se inoculan las placas de agar con el inóculo bacteriano estandarizado, se coloca un disco con una concentración fija de antimicrobiano en la placa de agar. Para la evaluación del extracto con una concentración conocida se coloca en un disco de papel filtro con un diámetro de 6 mm, posteriormente se coloca en la superficie del agar y se incuba de 16 a 20 h. Tras la incubación, se mide el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento bacteriano. La difusión del agente antimicrobiano (fármaco o extracto) en el agar inhibirá el crecimiento de los microorganismos que se inocularon en la placa de agar, como se observa en la figura 15 y 16 (Webber *et al.*, 2022).

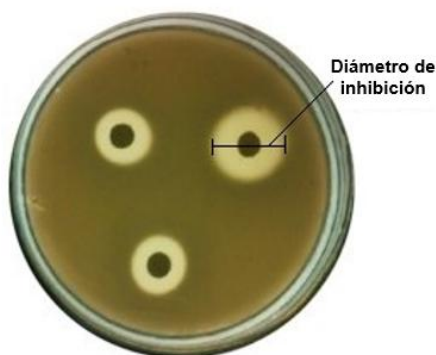


Figura 15. Modelo de un resultado obtenido con el método de difusión en discos de agar o método de Kirby-Bauer (Balouiri *et al.*, 2016).

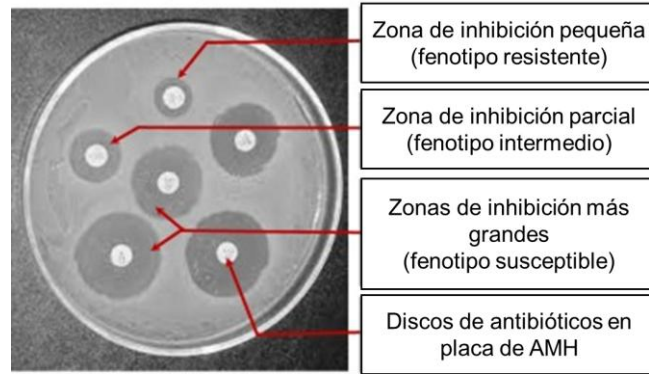


Figura 16. Modelo de un resultado obtenido con el método de difusión en disco de agar Kirby-Bauer que muestra diferentes zonas de inhibición en AMH (Agar Mueller Hinton) (Salam *et al.*, 2023).

Método de difusión en pocillos de agar

El método de difusión en pocillos de agar se utiliza comúnmente para probar la actividad antimicrobiana del extracto de plantas y es similar al método de difusión en discos de agar. La única diferencia es que el agente antimicrobiano se agrega directamente en un orificio perforado (de 6 a 8 mm) en el agar, en lugar de usar discos de papel de filtro. Generalmente, se agregan de 20 a 100 μL de agente antimicrobiano al pocillo y las placas de agar se incubarán en un tiempo determinado (Xiu *et al.*, 2023). En la figura 17, se observa un resultado obtenido a partir de este método de susceptibilidad.

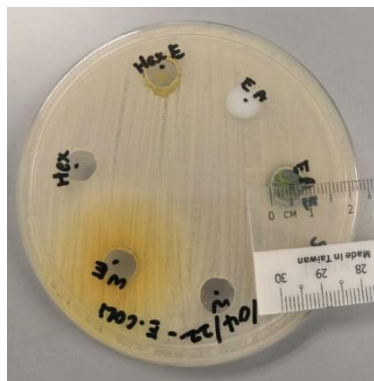


Figura 17. Ejemplo de un resultado obtenido del método de difusión en pocillos de agar (Xiu *et al.*, 2023).

Métodos de dilución

Los métodos de dilución son el método más apropiado para determinar los valores de concentración inhibitoria mínima (CIM), que es la concentración más baja del agente para inhibir el crecimiento de los microorganismos analizados, expresada en $\mu\text{g}/\text{mL}$ o mg/L . Los métodos de dilución en caldo como en agar se utilizan comúnmente para cuantificar la

actividad antimicrobiana de un compuesto contra bacterias y hongos desde la década de 1940 (Salam *et al.*, 2023; Xiu *et al.*, 2023).

El método de dilución en caldo (macro o micro) se usa para realizar pruebas antimicrobianas en el laboratorio. El método de microdilución es preferible ya que es más sencillo de operar, tiene un menor riesgo de errores y requiere de menos reactivo y espacio. El procedimiento implica la preparación de diluciones dobles de agentes antimicrobianos (por ejemplo, 1, 2, 4, 8, 16 y 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$) con un volumen mínimo de 2 mL en el método de macrodilución, en tanto el método de microdilución se utiliza un volumen menor de placa de microtitulación de 96 pocillos. El inóculo microbiano se prepara de acuerdo con los estándares del CLSI (0.5 McFarland), se inocula en cada tubo y se incuba típicamente durante 16 a 20 h, como el estándar para la mayoría de los métodos fenotípicos de AST. Los resultados se pueden observar a simple vista o mediante dispositivos de visualización (Xiu *et al.*, 2023). La metodología experimental para realizar adecuadamente la microdilución se esquematiza en la figura 18 y en la figura 19 se observan resultados obtenidos en microdilución y macrodilución.

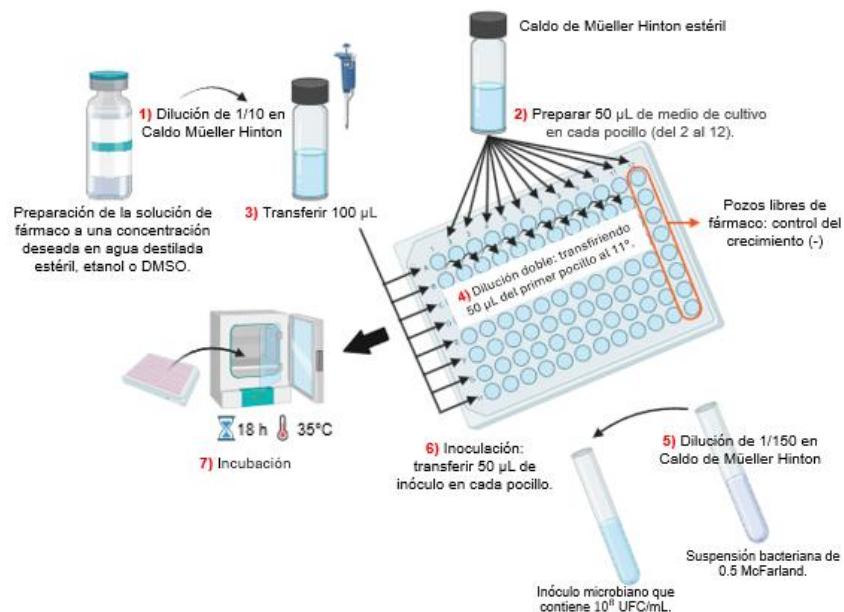


Figura 18. Microdilución de caldo para pruebas antibacterianas según lo recomendado por el protocolo de CLSI (Balouiri *et al.*, 2016). Elaboración propia.

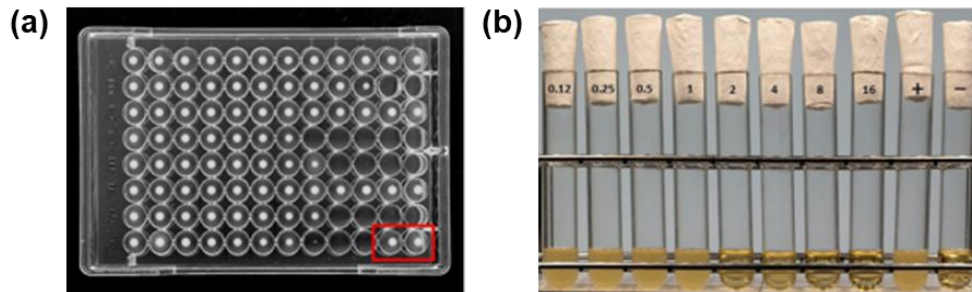


Figura 19. Resultados obtenidos con método de dilución: **a)** Microdilución en caldo (concentraciones de antimicrobianos que aumentan al doble, de izquierda a derecha en las líneas A-H; los pocillos recuadrados en la esquina inferior derecha representan los controles de crecimiento). **b)** Macrodilución en caldo (concentraciones de antimicrobianos que aumentan al doble, de izquierda a derecha en los tubos; los tubos marcados con + y - representan el control de crecimiento y el control de esterilidad, respectivamente) (Feßler *et al.*, 2023).

Es importante resaltar que para cuantificar eficazmente bacterias provenientes de las diluciones seriadas realizadas en la microdilución en caldo de forma masiva, rápida y económica se puede llevar a cabo la metodología “Goteo por Sellado en Placa Masivo” (GSPM) que implica el sellado o estampado de las diluciones seriadas de muestras de diversa procedencia mediante el uso de un replicador donde se toma en zona de esterilidad un volumen (aproximadamente 1.65 μ l) de muestra de cada pocillo, se inocula en un medio de crecimiento gelificado de interés y se incuba en condiciones óptimas para el crecimiento bacteriano. No obstante, dicha metodología también se utiliza para calcular el número de UFC/mL en cada una de las muestras (Corral-Lugo *et al.*, 2012).

Por otra parte, la dilución en agar implica la adición del antibiótico al medio de agar en concentraciones seriadas dobles, la inoculación con el organismo de prueba, la incubación y lectura durante la noche (Wenzler *et al.*, 2023).

Método de gradiente antimicrobiano

El gradiente antimicrobiano es un método fenotípico que proporciona una cuantificación directa de pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (AST) combinando el principio tanto de dilución como de difusión de antibióticos en un medio de agar. Bolmström y Eriksson a fines de la década de 1980 desarrollaron la prueba de epsilómetro (Etest). Este método consiste en una tira que se crea mediante la impregnación de un gradiente de concentración creciente predefinido del agente antimicrobiano de un extremo al otro y se

despliega en la superficie del agar, inoculada con el microorganismo de prueba. Se incuba durante la noche y se leen las pruebas mirando las tiras desde la parte superior de la placa y la CIM se considera en un punto donde una zona de inhibición en forma de elipse intersecta la tira. Al comparar con los valores del punto de corte de referencia del CLSI, el valor de CIM correspondiente de cada antibiótico se interpreta como Susceptible, Intermedio o Resistente (Salam *et al.*, 2023). Al igual que la difusión en disco de agar, una placa de medio de 150 mm admite solo de 5 a 6 tiras colocadas de forma radial sobre la superficie del agar o de 4 a 6 tiras para evitar la superposición de las zonas de inhibición. En la figura 20, se observa un ejemplo de la tira del método de gradiente antimicrobiano y un modelo de resultado.

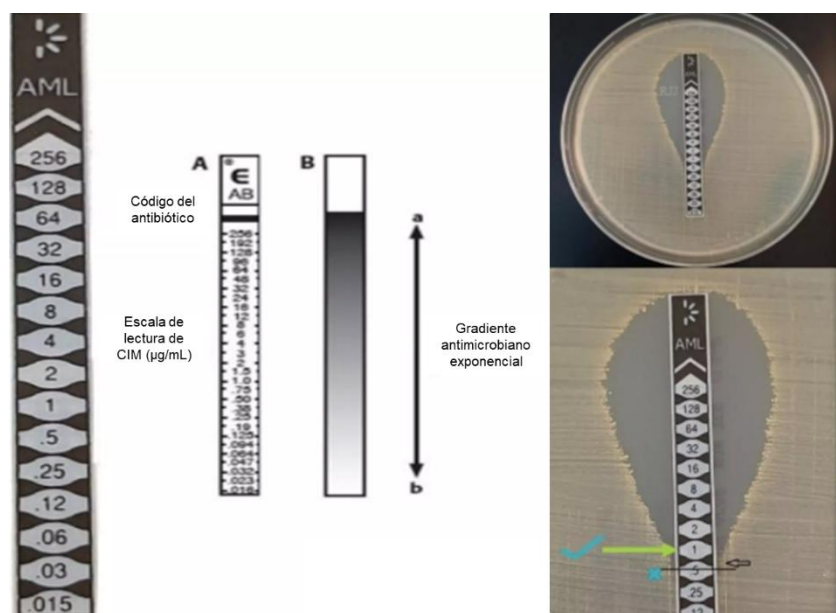


Figura 20. Ejemplo tira del método de gradiente antimicrobiano y modelo de resultado.

Los métodos cuantitativos de CIM (p. ej., dilución en caldo, dilución en agar y difusión en gradiente de agar) expresan los resultados numéricamente, mientras que los métodos cualitativos sin CIM (p. ej. difusión en disco) permiten una categorización amplia mediante criterios interpretativos sin un valor de CIM (Wenzler *et al.*, 2023).

Bacterias de importancia clínica

Escherichia coli

Escherichia coli (*E. coli*), es una bacteria gramnegativa, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y al orden *Enterobacterales*. Presenta forma de bastón, es móvil, no forma esporas, es anaeróbica facultativamente, tiene la capacidad de fermentar lactosa y producir indol, es catalasa positiva y oxidasa negativa (Basavaraju & Gunashree, 2022; Mueller & Tainter, 2023).

Es una bacteria coliforme que se encuentra normalmente en el tracto gastrointestinal de humanos y animales, la mayoría de las cepas de *E. coli* carecen de virulencia en este entorno, ayudan a digerir alimentos y a sintetizar vitaminas del complejo K y B. Sin embargo, cuando se encuentran fuera del tracto intestinal, *E. coli* puede transmitirse de persona a persona por vía fecal-oral y por alimentos contaminados, donde la fuente de contaminación suele ser el estiércol bovino. Causa infecciones extraintestinales y gastrointestinales, incluyendo infecciones del tracto urinario (ITU), neumonía, infecciones de heridas, bacteriemia y peritonitis, entre otras (OMS, 2018; Mueller & Tainter, 2023; Ahmed & Ahmed, 2024).

Entre los uropatógenos comunes asociados al desarrollo de ITU, *Escherichia coli* uropatógena (UPEC) es la principal causa, sus factores de virulencia secretados se dividen en tres categorías: proteínas autotransportadoras, toxinas y factores multifuncionales. Las adhesinas fimbriales y afimbriales (como las fimbrias tipo 1 (FimH), las fimbrias P (Pap), las fimbrias S (Sfa), la adhesina afimbrial I (Afa I)), el flagelo, el lipopolisacárido capsular, los antígenos de serotipo O y K y otras proteínas de la membrana externa son ejemplos de factores de virulencia de la superficie celular bacteriana, representados en la figura 21 (Arafi *et al.*, 2023).

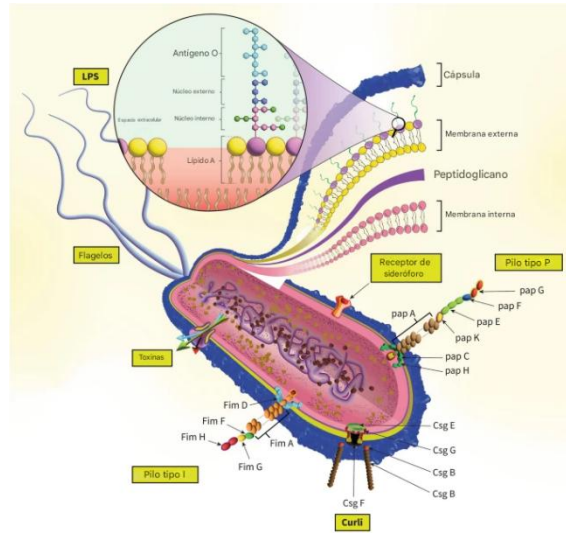


Figura 21. Componentes estructurales y factores de virulencia de *E. coli* (Arafi *et al.*, 2023).

Klebsiella pneumoniae

Klebsiella pneumoniae (*K. pneumoniae*) miembro del orden *Enterobacterales* y de la familia *Enterobacteriaceae*, es una bacteria gramnegativa, aeróbica facultativa, inmóvil, con cápsula de polisacáridos y con forma de bastón. Su caracterización bioquímica es catalasa positiva y oxidasa negativa, lisina descarboxilasa positiva y ornitina descarboxilasa negativa, positiva a la prueba de Voges-Proskauer, fermentadora de lactosa y fijadora de nitrógeno (Asokan *et al.*, 2025).

Esta bacteria forma parte de la flora común de humanos y animales con comportamiento patógeno oportunista; suele colonizar la orofaringe y mucosa del tracto gastrointestinal, tanto en humanos como en animales. Se clasifican como cepas clásicas, hipervirulentas y multirresistentes. Las primeras se suelen asociarse con infecciones nosocomiales, mientras que las hipervirulentas causan infecciones extrahospitalarias, principalmente abscesos hepáticos, meningitis e infecciones diseminadas (Joseph *et al.*, 2024).

K. pneumoniae pertenece al grupo de patógenos ESKAPE, responsables de infecciones graves en personas inmunodeprimidas. El término “ESKAPE” es un acrónimo que representa a seis bacterias resistentes a medicamentos, donde "E" significa *Enterococcus faecium*, "S" para *Staphylococcus aureus*, "K" para *Klebsiella pneumoniae*, "A" para *Acinetobacter baumannii*, "P" para *Pseudomonas aeruginosa* y "E" para especies de *Enterobacter*. Estos

patógenos poseen la capacidad de “escapar” de los efectos de los agentes antimicrobianos de uso común, lo cual ha sido un problema en entornos hospitalarios donde los pacientes vulnerables con sistemas inmunológicos comprometidos presentan un mayor riesgo de infección (Joseph *et al.*, 2024; Samyuktha *et al.*, 2025)

Los principales factores de virulencia son asociados a los polisacáridos de la cápsula, los lipopolisacáridos, fimbrias, sideróforos, la captación de hierro férrico y la capacidad de metabolizar alantoína (Monteiro *et al.*, 2024). Los genes diana utilizados para buscar factores de virulencia en *K. pneumoniae* de diferentes infecciones humanas se representan en la figura 22.

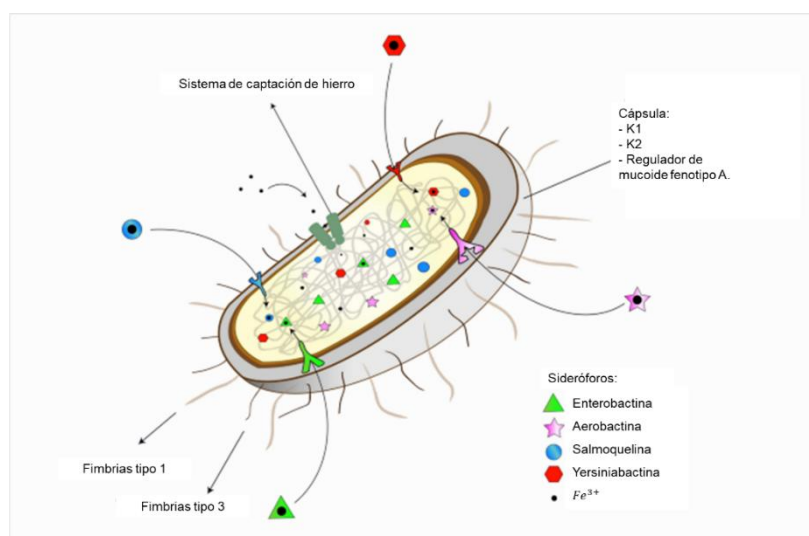


Figura 22. Representación esquemática de los principales factores de virulencia de *Klebsiella pneumoniae* (Monteiro *et al.*, 2024).

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa pertenece a la familia *Pseudomonaceae*, es un bacilo gramnegativo móvil debido a la presencia de un flagelo polar. Respecto a su metabolismo, no es fermentador es estrictamente aerobio, catalasa y oxidasa positivas. Se caracteriza por producir pigmentos como la piocianina, pioverdina y piorrubina (INSST, 2022; Wilson & Pandey, 2023) .

Se encuentra comúnmente en el medio ambiente, especialmente en agua dulce. No obstante, es un patógeno oportunista que puede causar una gran variedad de infecciones

extrahospitalarias en personas con inmunodepresión, siendo una causa importante de infecciones nosocomiales, que se manifiestan como neumonía, infecciones del sitio quirúrgico, infecciones del tracto urinario y bacteriemia. La transmisión se produce principalmente a través del contacto de la piel lesionada o reblandecida y de las mucosas con el agua o con los objetos contaminados. Además, es miembro de los patógenos “ESKAPE” resistentes a múltiples fármacos (Reynolds & Kollef, 2021; Killough *et al.*, 2022).

P. aeruginosa es una bacteria virulenta, los principales contribuyentes a su patogenicidad son sus estructuras de superficie celular, compuestos secretados y su capacidad de formar biopelículas, ilustrados en la figura 23 (Killough *et al.*, 2022).

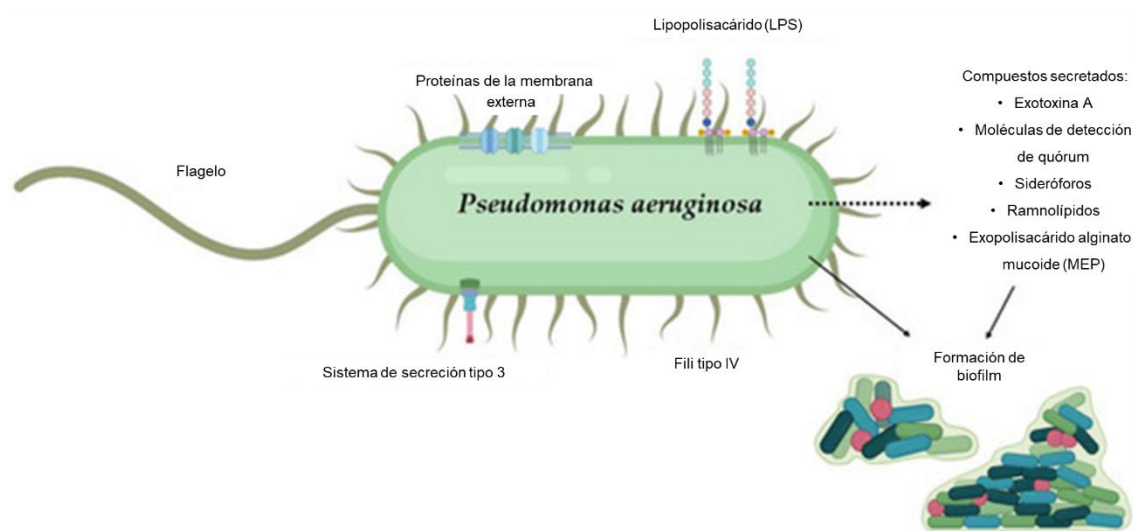


Figura 23. Estructura celular y factores de virulencia importantes en la patogénesis de las infecciones causadas por *P. aeruginosa* (Killough *et al.*, 2022).

***Salmonella* sp.**

Las especies de *Salmonella* incluyen bacilos gramnegativos que pertenecen al orden *Enterobacterales* dentro de la familia *Enterobacteriaceae*. Son móviles con flagelos, no forman esporas ni cápsulas, anaerobios facultativos, caracterizados por la presencia de antígenos O, H y Vi, son catalasa positiva y oxidasa negativo, son capaces de reducir nitrato a nitrito, crecen con citrato como única fuente de carbono, producen ácido y gas a partir de glucosa (Ajmera & Shabbir, 2023; Parija, 2023).

Estas bacterias son comunes en la naturaleza y se pueden encontrar en una amplia variedad de especies incluyendo humanos y animales como mascotas, ganado, aves y reptiles. La principal vía de transmisión es la fecal-oral, que implica el consumo de alimentos y agua contaminados con heces u orina. Las bacterias del género de *Salmonella* son responsables de la infección conocida como salmonelosis, la cual causa fiebre, diarrea y calambres en el abdomen. Los serotipos de *Salmonella* especialmente *S. typhimurium* y *S. enteritidis* causan gastroenteritis o también conocida como salmonelosis no tifoidea, estos serotipos se reconocen como patógenos intestinales más importantes en animales y humanos (Parija, 2023; Hashemi *et al.*, 2025).

La gravedad de las infecciones provocadas por *Salmonella* depende de los serotipos causales y de la salud inmunológica del paciente. Los factores de virulencia se encuentran situados en las islas de patogenicidad de *Salmonella*, como la endotoxina que es responsable de muchas manifestaciones sistémicas. Las adhesinas, como fimbrias y proteínas de la membrana externa se adhieren a células intestinales y crean factores de virulencia, que ayudan en su invasión de las células huéspedes (figura 24). El antígeno Vi es una cápsula de polisacárido que previene la fagocitosis y la destrucción de las células inmunes. La exotoxina producida por el serotipo *Typhi*, denominada “toxina tifoidea”, es responsable de la patogénesis y los síntomas tifoideos (Ajmera & Shabbir, 2023; Teklemariam *et al.*, 2023).

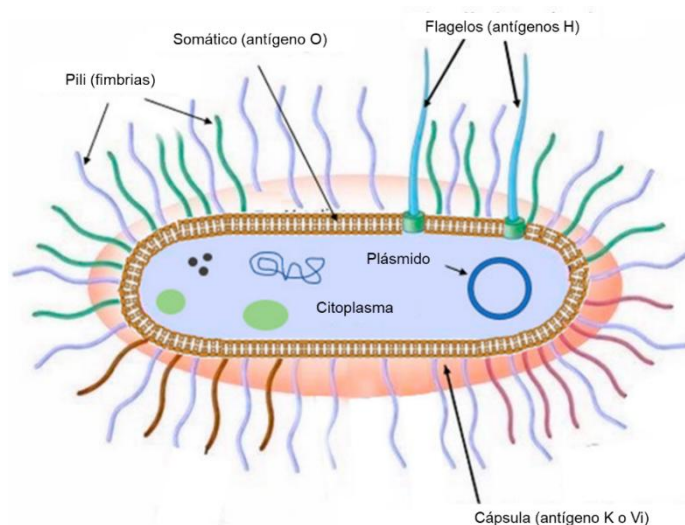


Figura 24. Estructura celular de *Salmonella* spp. y antígenos principales: antígenos flagelares (H), de cápsula (K) y somáticos (O) (Teklemariam *et al.*, 2023).

***Shigella* sp**

Las especies de *Shigella* forman parte del orden *Enterobacterales* dentro de la familia *Enterobacteriaceae* responsables de las enfermedades diarreicas en todo el mundo. Son bacilos gramnegativos, no son móviles, no producen esporas ni se encuentran encapsulados, algunas cepas poseen fimbrias. Son aerobias y anaerobias facultativas, catalasa positiva, oxidasa y citrato negativas, no fermentan lactosa ni sacarosa, fermenta manitol formando ácido, pero no gas (Parija, 2023).

Según sus distintas características bioquímicas y variaciones en el antígeno O se clasifican en cuatro serotipos: grupo A (*S. dysenteriae*) comprende 15 serotipos, el grupo B (*S. flexneri*) incluye 8 serotipos con 11 subserotipos, el grupo C (*S. sonnei*) abarca 19 serotipos y el grupo D (*S. boydii*) consta de un solo serotipo. *Shigella* es un patógeno que se propaga por transmisión fecal-oral, siendo el ser humano el único reservorio natural. Se transmite especialmente a través de alimentos o agua contaminados y contacto de persona a persona (Parija, 2023; Leow *et al.*, 2024).

Las infecciones causadas por especies de *Shigella* son shigelosis, disentería bacilar, estado asintomático y síndrome hemolítico urémico. *Shigella flexneri* y *Shigella dysenteriae* han sido identificadas como la principal causa de disentería bacteriana en los países en desarrollo. No obstante, *Shigella* también puede provocar deshidratación mortal a poblaciones vulnerables como niños, ancianos e individuos inmunocomprometidos (Somda *et al.*, 2025).

La manifestación de virulencia en *Shigella* depende de la presencia de un plásmido de virulencia. sustancia que codifica un sistema de secreción de tipo III (T3SS) junto con una gran variedad de proteínas secretadas como factor de adherencia intestinal, endotoxinas, toxina Shiga, los cuales son reconocidos como factores de virulencia que ayudan a invadir y colonizar las células intestinales (figura 25). También produce una proteína llamada IcsA, responsable de la motilidad basada en actina, esto permite a las bacterias moverse dentro del citoplasma de la célula huésped y propagarse de célula a célula (Leow *et al.*, 2024).

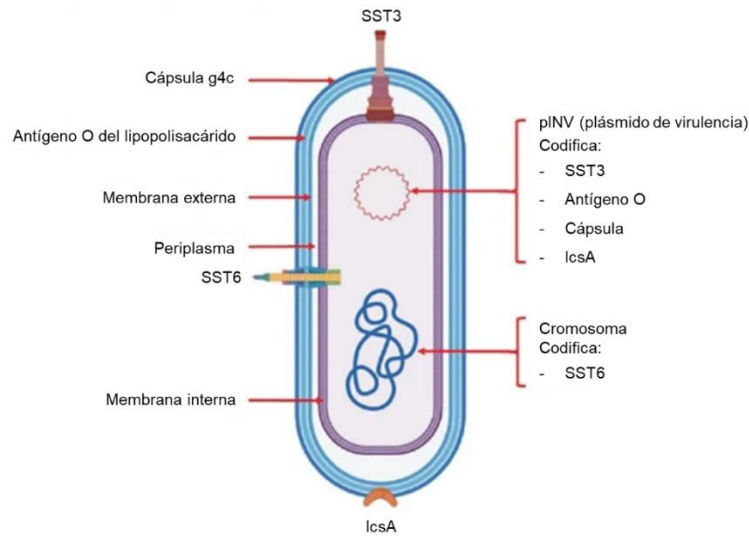


Figura 25. Morfología y estructura celular de *Shigella* spp. Factores de virulencia: SST3 (sistema de secreción de tipo III); SST6 (sistema de secreción de tipo VI); g4c (cápsula del grupo 4); lcsA (proteína de propagación intracelular (Leow *et al.*, 2024).

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) es una bacteria grampositiva que es miembro de la familia *Staphylococcaceae*. Se presenta en forma de coco y tiende a estar en grupos que se describen como “racimos de uvas”; es aeróbico o anaeróbico (facultativo). Bioquímicamente se identifica en la capacidad de desarrollarse en presencia de altas concentraciones de sal, pruebas de catalasa positiva, oxidasa negativa, coagulasa positiva fermentando el manitol (Taylor & Unakal, 2023).

S. aureus se encuentra en el medio ambiente y en la flora humana normal específicamente en la piel y membranas mucosas (área nasal). No suele causar infección en la piel sana; sin embargo, si ingresa al torrente sanguíneo o tejidos internos puede causar infecciones graves incluyendo bacteriemia, endocarditis infecciosa, infecciones de piel y tejidos blandos, osteomielitis, artritis séptica, infecciones de dispositivos protésicos, infecciones pulmonares (neumonía y empiema), gastroenteritis, meningitis, síndrome de shock tóxico e infecciones del tracto urinario. La transmisión se produce por contacto directo o por fómites a profesionales sanitarios, pacientes hospitalizados y personas inmunodeprimidas (Taylor & Unakal, 2023; Sato'o, 2024).

La virulencia de *S. aureus* se ha considerado multifactorial debido a sus diversos determinantes de virulencia que promueven la adhesión tisular, la evasión inmunitaria y el daño a la célula huésped. Los factores de virulencia consisten en factores estructurales (cápsula de polisacárido y factores de adherencia como las adhesinas) y moléculas secretadas (exoproteínas), además de su capacidad de formar biopelículas (biofilms) (figura 26) (Shaghayegh *et al.*, 2022) .

Algunas cepas de *Staphylococcus aureus* tienen la capacidad de resistir al calor y el secado, por lo cual pueden contaminar fácilmente los alimentos. Las toxinas producidas por esta bacteria pueden afectar el tracto intestinal y provocar intoxicación alimentaria estafilocócica (Sato'o, 2024).

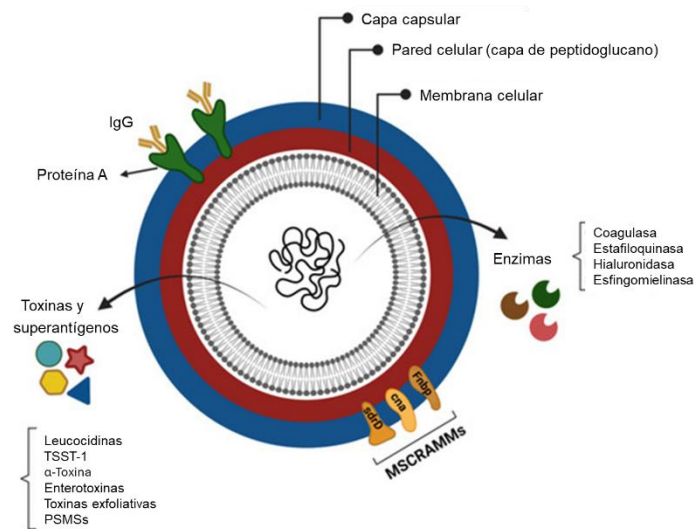


Figura 26. Estructura celular de *Staphylococcus aureus* y factores de virulencia modulinas solubles en fenol (PSMSs), toxina del síndrome de shock tóxico 1 (TSST-1), las enterotoxinas estafilocócicas (SEs) y las toxinas similares a superantígenos estafilocócicos (SSL) (Shaghayegh *et al.*, 2022).

Mecanismos de acción de los fitocompuestos

A continuación, se describen brevemente los mecanismos de acción descritos en la literatura de los fitocompuestos.

- I. Alteración de la permeabilidad de la membrana: la membrana plasmática es una barrera selectivamente permeable compuesta por una bicapa de fosfolípidos intercalada con proteínas que regulan el transporte de nutrientes, iones y productos de desecho. La alteración de la membrana plasmática puede comprometer sus funciones esenciales, provocando la fuga de componentes intracelulares y, como

consecuencia final, la muerte celular. Los compuestos fenólicos, los terpenoides, la acetona de artemisia, el cariofileno y β -selineno dañan la integridad de la membrana de forma inespecífica e inhiben ciertas enzimas transportadoras de electrones, exhibiendo la actividad antimicrobiana (Pérez *et al.*, 2025). Los compuestos no polares se reparten en el interior hidrofóbico de la membrana, mientras que los grupos polares de los lípidos celulares (fosfolípidos) interactúan con los compuestos hidrofílicos (flavonoides hidrofílicos) a través de la formación de enlaces de hidrógeno, se integran y conducen cambios en las propiedades físicas de la membrana, como el aumento de su permeabilidad, alteración de su dinámica y disminución de su integridad, dicha disrupción puede causar la pérdida del material celular vital y conducir a la muerte bacteriana (Álvarez *et al.*, 2025).

- II. Inhibición del metabolismo energético: la membrana alberga enzimas esenciales para la producción de energía, como las que participan en la síntesis de ATP (trifosfato de adenosina) a través de la cadena de transporte de electrones. La inhibición de ATP sintasa o interferencia en la cadena de transporte de electrones detiene el crecimiento bacteriano al reducir la disponibilidad de energía en la bacteria para su supervivencia (Pérez *et al.*, 2025).
- III. Inducción de estrés oxidativo: los compuestos naturales inducen estrés oxidativo al general un exceso de especies reactivas de oxígeno (ROS), como radicales de hidroxilo, superóxido y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), lo cual superan la capacidad antioxidante de la célula. Los ROS reaccionan con lípidos de la membrana, proteínas y ácidos nucleicos provocando peroxidación lipídica, inactivación enzimática y daño al ADN, alterando la integridad y función celular. Los polifenoles generan H_2O_2 por autooxidación de polifenoles, que activa la peroxidación lipídica de la membrana y aumenta la disrupción celular y la permeabilidad de la membrana (Tsegay & Mulaw, 2025).
- IV. Interferencia en la síntesis de ADN/ARN: los compuestos vegetales interrumpen la síntesis de ácidos nucleicos al dirigirse a varias etapas de la producción de ARN y ADN a través de múltiples mecanismos, ya que pueden inhibir enzimas esenciales implicadas en la replicación y transcripción (Pérez *et al.*, 2025). Los flavonoides inhiben la transcripción del ADN en *S. aureus*, la capacidad del anillo B de los

flavonoides de intercalarse o formar enlaces de hidrógeno con el apilamiento de las bases de los ácidos nucleicos (Álvarez *et al.*, 2025). En el caso de los ácidos grasos, un posible mecanismo de acción corresponde a la inhibición de la replicación de ADN y ARN (Casillas *et al.*, 2021). Estos compuestos derivados de plantas detienen eficazmente el crecimiento y la reproducción bacteriana, lo que en última instancia causa la muerte celular.

- V. Inhibición de la biosíntesis de proteínas: los compuestos vegetales inhiben la síntesis de proteínas al interferir con ciertas etapas del proceso, incluyendo la activación, iniciación, interrupción de la elongación de la cadena peptídica, bloqueo del sitio A del ribosoma, lectura errónea del código genético y prevención de la unión de cadenas laterales de oligosacáridos a glicoproteínas (Pérez *et al.*, 2025).
- VI. Inhibición de las bombas de eflujo: una amplia variedad de patógenos resistentes a múltiples fármacos tiene la capacidad de expresar bombas de eflujo, logrando eliminar los antibióticos del interior de las células. Algunos compuestos derivados de plantas demuestran efectos notables como inhibidores de bombas de eflujo (Pérez *et al.*, 2025). Derivados de la artemisinina, potencian el efecto antibacteriano de los antibióticos β -lactámicos contra Enterobacterales como *E. coli* y *S. aureus* al aumentar la acumulación de antibióticos mediante la inhibición del sistema de eflujo AcrAB-TolC (Duffey *et al.*, 2024).
- VII. Inhibición de la formación de biopelículas bacterianas: una biopelícula es una comunidad bacteriana organizada que se encuentra rodeada por una matriz autoproducida compuesta de ADN extracelular, polisacáridos y proteínas. Los derivados de alcanfor tienen la capacidad para erradicar biopelículas formadas por cepas bacterianas, tanto grampositivas como gramnegativas (Pérez *et al.*, 2025).
- VIII. Inhibición de la síntesis de la envoltura celular: los compuestos naturales actúan en diferentes etapas de la formación de peptidoglicano, la principal estructura de la pared celular, lo que conlleva a la muerte bacteriana.
- IX. Inhibición de la biosíntesis de la pared celular: la pared celular es una estructura vital para mantener la presión osmótica, la forma celular y la integridad celular. La molécula esencial de esta estructura es el peptidoglicano. El ácido linoleico puede alterar los genes de síntesis de peptidoglicanos en *S. aureus* (Casillas *et al.*, 2021).

Los mecanismos de acción que explican la actividad antibacteriana de los fitocompuestos se ilustran en la figura 27.

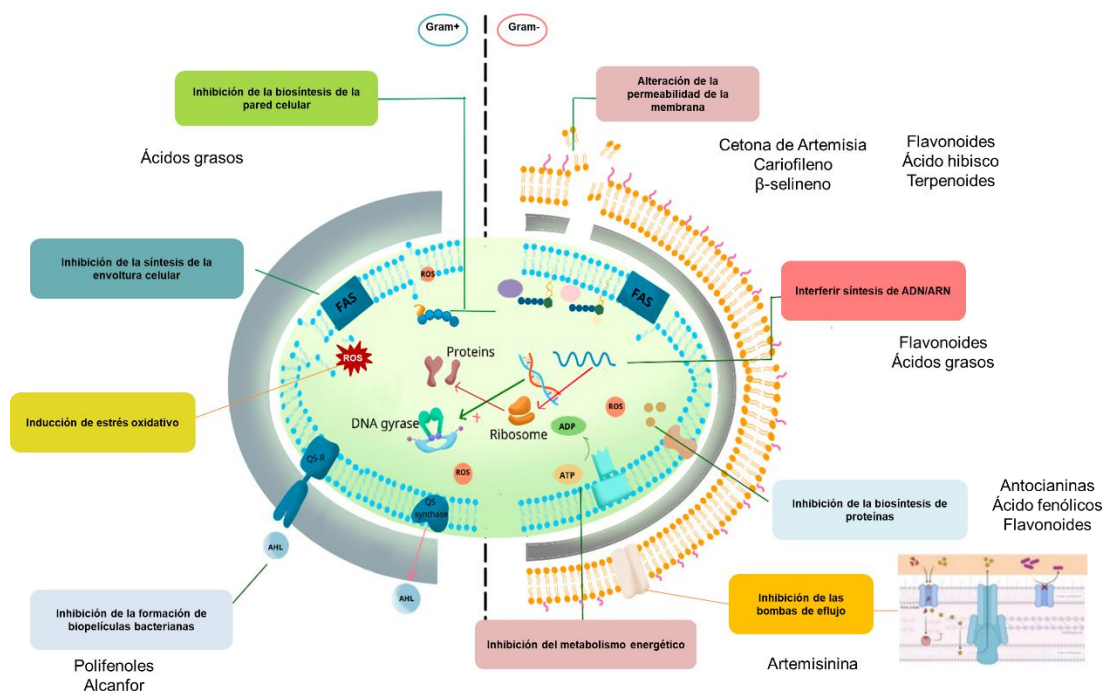


Figura 27. Mecanismo de acción descrito para fitocompuestos antimicrobianos (Pérez *et al.*, 2025). Modificado.

Marco de referencia

Wu en el 2018, identificó los compuestos del aceite esencial de *A. annua* fresco (FE) y del aceite esencial de *A. annua* seco (DE) mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM), las pruebas antibacterianas *in vitro* mostraron que los aceites esenciales tuvieron diferentes efectos inhibidores sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* a 0.25 %, 0.5 %, 1 %, 2 % y 4 % (v/v) de los dos conjuntos de aceites esenciales en solución de etanol. La actividad antibacteriana de DE fue más efectiva que la de FE a bajas concentraciones de aceite esencial (Wu *et al.*, 2018).

Rolta en el 2021, utilizó el método de dilución en caldo para medir la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos metanólico (ME) y de éter de petróleo (PE), así como de antibióticos antibacterianos (vancomicina, eritromicina, cloranfenicol, kanamicina y tetraciclina), donde se observó que los extractos de PE de *A. annua* presentaron la CMI más

baja contra *E. coli* y *S. aureus* (62.5 µg/mL), seguidos del extracto de ME (125 µg/mL) contra *E. coli* y *S. aureus*. Además, probó los fitocompuestos presentes en extractos acuosos, clorofórmicos, metanólicos y de éter de petróleo de la parte aérea de *A. annua* L. sobre bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus* sp., *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* uropatógena y *Pseudomonas aeruginosa*, encontrando que el extracto acuoso, metanólico y etanólico mostró la mejor actividad antibacteriana. Los mecanismos moleculares que dan respuesta a la actividad antimicrobiana son muy complejos, sin embargo, se ha mencionado que los ácidos fenólicos alteran la integridad de la membrana y provocan fugas de constituyentes intracelulares esenciales. Además, se ha demostrado que los fenilpropanoides condensados (taninos) inducen daños en la membrana celular e incluso inactivan el metabolismo al unirse a ciertas enzimas (Rolta *et al.*, 2021).

Soni en el 2022, demostró que el aceite esencial de *Artemisia annua* L. posee una mayor acción antibacteriana cuando se probó contra bacterias como *Micrococcus luteus*, *Candida krusei*, *Haemophilus influenza*, *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus faecalis* (Soni *et al.*, 2022).

Chebbac en el 2023, reveló que el aceite esencial de la parte aérea de *Artemisia annua* L. demuestra propiedades antimicrobianas contra bacterias como *Escherichia coli* con una zona de inhibición de 75.67 mm y CMI de 5.34 µg/mL, contra la cepa *Salmonella* sp. Mostró un valor de CMI DE 1.09 µg/mL y una zona de inhibición de 16 mm. Sin embargo, *Bacillus cereus* como bacteria grampositiva fue menos sensible, ya que tuvo una zona de inhibición de 11 mm y un valor de CMI de 5.44 µg/mL. Además, se identificó un predominio de cetona de artemisia (43.19%), seguido de un cariofileno (15.75%) y β-selineno (10.32%) mediante un análisis por CG-EM (Chebbac *et al.*, 2023).

Nahuatt en el 2017, comparó la actividad antimicrobiana de la jamaica con las del ajo (*Allium sativum* L.) y el jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), en la inhibición de especies bacterianas resistentes a antibióticos en infecciones urinarias, tales como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, donde la jamaica demostró ser un potente antimicrobiano que inhibe el crecimiento de las especies bacterianas mediante concentraciones de 25 hasta 200 mg/mL (Nahuatt *et al.*, 2017).

Baena en el 2021, determinó y comparó el efecto antimicrobiano de los extractos acuosos, metanólicos, etanólicos, acetónicos y de acetato de etilo de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. (variedades Oaxaca y Guerrero), y enjuagues bucales comerciales y clorhexidina sobre bacterias como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Capnocytophaga gingivalis* y *Staphylococcus aureus*. La actividad antimicrobiana se determinó mediante la técnica de difusión en disco de agar y se demostró que todos los extractos de *H. sabdariffa* y la clorhexidina tienen actividad antibacteriana contra todas las bacterias patógenas orales. Así mismo, los enjuagues bucales mostraron un efecto antibacteriano menor que los extractos de *H. sabdariffa* y la clorhexidina. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos de acetato de etilo de ambas variedades fue de 5 - 7 mg/mL para todas las cepas patógenas. Finalmente, el efecto antimicrobiano de los extractos de cáliz de *H. sabdariffa* L. se determinó como bactericida o bacteriostático (Baena *et al.*, 2021).

Gweyi en el 2021, demostró que el extracto de jamaica tiene actividad antimicrobiana contra *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes* aisladas de alimentos, animales y muestras clínicas. En otro estudio, los extractos acuosos y etanólicos obtenidos del cáliz de *H. sabdariffa* L. mostraron efectos antibacterianos contra *Salmonella typhimurium* DT104, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*. Los extractos de esta planta demostraron actividades antimicrobianas y antioxidantes, lo que indica que el extracto hidroetanólico no solo inhibe la peroxidación lipídica sino también hongos y bacterias (Gweyi *et al.*, 2021).

Takada en el 2024, realizó un análisis por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) con los extractos acuosos de cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. para identificar los componentes químicos importantes por sus efectos inhibidores del crecimiento bacteriano. Mediante una comparación de las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) del ácido ascórbico y pigmentos del hibisco demostraron que los pigmentos fueron más efectivos para inhibir el crecimiento de las cepas bacterianas que causan enfermedades bucales como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*. Las CMI del ácido ascórbico para *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* fueron 20, 20, 5, 5 y 10 mg/mL, respectivamente; las CMI

de pigmento de hibisco para *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* fueron 10.26, 10.26, 2.57, 1.28 y 5.13 mg/mL. Han informado que los flavonoides presentes en el extracto de hibisco pueden formar complejos con componentes de la pared celular bacteriana, permeabilizando la superficie celular bacteriana y causando salida de iones, exhibiendo una actividad antibacteriana (Takada *et al.*, 2024).

Venkatesan en el 2024, demostró que el efecto del extracto metanólico de *H. sabdariffa* L. puede atribuirse a la presencia de varios compuestos bioactivos como el ácido de hibisco. Se observó un efecto antimicrobiano significativo contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Las CMI de los metabolitos crudos de *H. sabdariffa* (flores) mostraron inhibición del crecimiento para *S. aureus* a una concentración de 128 mg/L, mientras que una concentración de 512 mg/L de *E. coli* (Venkatesan *et al.*, 2024).

Veeraraghavan en el 2020, estudió el potencial antimicrobiano del extracto acuoso y etanólico contra ciertas bacterias. Se descubrió que las saponinas de su extracto eran eficaces contra muchas cepas de *Candida* sp., y bacterias grampositivas como *Helicobacter pylori*. Así mismo, se observó que el extracto etanólico de *P. argentea* Lam. exhibió que no hay un potencial antimicrobiano para *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* (Veeraraghavan *et al.*, 2020).

Abdelkhalek en el 2021, evaluó los extractos de la planta de *Paronychia argentea* Lam. para conocer su eficiencia antibacteriana. El extracto metanólico de las partes aéreas de *P. argentea* mostró eficacia antimicrobiana contra la mayoría de las cepas de *Candida* y bacterias grampositivas, como *Helicobacter pylori*. Por otro lado, realizaron un análisis por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) del extracto donde se definieron diferentes compuestos fitoquímicos, compuestos fenólicos como ácido ferúlico, ácido elágico y ácido gálico, y flavonoides como quercetina, kaempferol y miricetina (Abdelkhalek *et al.*, 2021).

Shatnawi en el 2021, realizó un ensayo de la actividad antibacteriana de plantas de cultivo de tejidos (*in vitro*) y de campo (*ex vitro*) de *P. argentea* Lam. Los extractos acuosos y metanólicos mostraron la máxima actividad antimicrobiana *ex vitro* de las plantas contra *Salmonella typhimurum* y *Coronobacter sakazakii* (30.0 mm ± 0.2). El extracto metanólico *in vitro* no mostró actividad inhibitoria contra *Salmonella typhimurum*, *Listeria monocytogen*

ni *Staphylococcus aureus*. Los extractos acuosos y metanólicos de las plántulas *ex vitro* e *in vitro* demostraron ser muy eficaces contra *Calvularia lunata*, con una zona de inhibición máxima de 30.0 mm, demostrando el extracto vegetal una actividad antifúngica. Los controles positivos para las cepas bacterianas fueron estreptomomicina, ampicilina, ampilicil y penicilina, y para las cepas de moho se utilizó anfotericina B como control positivo (Shatnawi *et al.*, 2021).

Planteamiento del problema

La resistencia antimicrobiana es un fenómeno que surge cuando los microorganismos cambian de forma natural con el tiempo, generalmente esto sucede por modificaciones genéticas. La resistencia ocasiona que los medicamentos pierdan su efectividad, dando como resultado enfermedades más prolongadas, elevados índices de mortalidad y mayores costos en el cuidado de la salud.

Los microorganismos resistentes a los antimicrobianos se encuentran presentes en las personas, los animales, los alimentos, las plantas y el medio ambiente (agua, suelo y aire); además pueden propagarse de una persona a otra o incluso entre personas y animales. Existen varios factores que contribuyen al desarrollo de las bacterias resistentes a los antibióticos (BRA) como es el uso excesivo y el mal uso de antibióticos, medidas deficientes en el cuidado de las infecciones, factores genéticos y factores ambientales (agua sucia, saneamiento e higiene) (Díaz *et al.*, 2023).

Según un informe de la Organización Mundial de la Salud (OMS), 50,000 personas mueren cada día en todo el mundo debido a infecciones por bacterias y hongos resistentes a múltiples fármacos. De igual forma, la OMS declaró que la resistencia a los antimicrobianos es una de las 10 principales amenazas de salud pública a las que enfrenta la humanidad (OMS, 2021).

A lo largo de la historia, se han utilizado remedios y formulaciones a base de plantas para tratar una amplia gama de enfermedades. A pesar de la gran cantidad de especies de plantas en la Tierra, que se estima entre 250,000 y 525,000, solo una pequeña fracción, que oscila entre el 1% y el 10%, se ha sometido a investigaciones químicas y farmacológicas exhaustivas para descubrir sus posibles propiedades terapéuticas (Teli *et al.*, 2024).

En la actualidad, se están investigando diversas plantas por sus fitoquímicos que son sustancias químicas naturales que tienen potencial terapéutico, como efectos antioxidantes, antimicrobianos, antiinflamatorios, anticancerígenos, entre otros (Yao *et al.*, 2023).

Esto conlleva a la búsqueda de estrategias alternativas para combatir las infecciones bacterianas. Las fuentes naturales aún albergan una gran cantidad de moléculas bioactivas que todavía están por descubrir, particularmente dentro de las plantas (reino *Plantae*).

Por esta razón, es de interés la búsqueda, caracterización y evaluación de la actividad antimicrobiana de los fitoextractos de *Artemisia annua* L. (*ajenjo dulce*), *Hibiscus sabdariffa* L. (*jamaica*), *Paronychia argentea* Lam. (*sanguinaria*). Una de las principales ventajas de uso de los fitoquímicos con fines antimicrobianos es su capacidad multifactorial, ya que esto dificulta potencialmente la generación de posibles mecanismos de resistencia en las bacterias. No obstante, es importante mencionar que también los fitoquímicos pueden actuar en sinergia con los antibióticos, como los coadyuvantes antibióticos, mejorando su actividad antimicrobiana y reduciendo potencialmente la cantidad de antibiótico necesaria para tratar una infección (Díaz *et al.*, 2023).

En el presente estudio se evaluarán los efectos de inhibición de los tres distintos extractos en bacterias de importancia clínica, como es *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Staphylococcus aureus*.

Pregunta de investigación

¿Qué efecto presentan los extractos de ajeno dulce (*Artemisia annua* L.), jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y sanguinaria (*Paronychia argentea* Lam.) frente a bacterias de importancia médica (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Staphylococcus aureus*)?

Justificación

El presente trabajo estudia los extractos de las plantas *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. como una propuesta alternativa de inhibidores antimicrobianos frente a bacterias de importancia clínica.

Debido a que la amenaza de resistencia antimicrobiana va aumentando y como consecuencia las enfermedades que ocasionan son más graves, es necesario realizar una investigación sobre la actividad que presentan los fitoextractos para la inhibición de bacterias de importancia médica proponiendo que los extractos de las plantas *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. podrían ser una gran alternativa fitoterapéutica a esta propagación de bacterias que persiste y que día tras día se hace más grande y peligroso para la salud humana. Para comprobar que los extractos antes mencionados presentan el potencial de inhibir el crecimiento de microorganismos, se han elegido: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Staphylococcus aureus*.

Estas bacterias seleccionadas tienen importancia clínica debido a la capacidad de causar infecciones graves y su creciente resistencia a los antibióticos. *Escherichia coli* está asociada a factores alimenticios, como el reciente caso en restaurantes de McDonald's en EE. UU. Las especies de *Klebsiella* son patógenos oportunistas que pueden causar infecciones graves y algunas especies son resistentes a antibióticos. *Pseudomonas aeruginosa* afecta a sistemas inmunocomprometidos y muestra una notable resistencia y adaptación a diversos ecosistemas. *Salmonella* y *Shigella* provocan intoxicaciones alimentarias y son consideradas por la OMS como bacterias resistentes. *Staphylococcus aureus* está clasificada como de alta prioridad por la OMS, representa una amenaza global por su resistencia y su impacto en la mortalidad (FDA, 2024; OMS, 2024).

Objetivos

Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana de los extractos de las plantas *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L., *Paronychia argentea* Lam. frente a bacterias de importancia clínica.

Objetivos específicos

- a) Obtener extractos de las diferentes plantas de estudio.
- b) Evaluar la actividad antimicrobiana de los fitoextractos mediante el método de difusión modificado.
- c) Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los fitoextractos frente a las bacterias sensibles.

- d) Identificar los compuestos fitoquímicos de los extractos de las plantas mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

Hipótesis

Los extractos de las plantas *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. poseen propiedades antimicrobianas que podrían constituir una alternativa fitoterapéutica efectiva frente a la creciente resistencia microbiana.

H_0 : Los extractos de plantas evaluados no son una alternativa como fitoterapia debido a que no presentan actividad antimicrobiana.

H_1 : Los extractos de plantas evaluados presentan actividad antimicrobiana, por lo que constituyen una alternativa viable para su uso en fitoterapia.

Diseño de la investigación

a) *Tipo de estudio:*

- Descriptivo
- Observacional
- Transversal
- Analítico

b) *Universo del estudio:*

Se evaluarán los extractos de las plantas *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam.

c) *Tamaño de muestra:*

3 extractos de las plantas:

- ◇ *Artemisia annua* L.
- ◇ *Hibiscus sabdariffa* L.
- ◇ *Paronychia argentea* Lam.

d) *Sede y lugar del estudio:*

Facultad de Ciencias Químicas (FCQ).

Laboratorio de Ecología Molecular Microbiana del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas – Instituto de Ciencias (ICUAP).

e) *Criterios de selección (criterios de inclusión y criterios de exclusión):*

En la tabla 1 se mencionan los criterios de selección para llevar a cabo la investigación.

Tabla 1. Criterios de inclusión y exclusión que se aplicaron en la investigación.

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Selección de las partes de las plantas	
<ul style="list-style-type: none"> Flor, tallo y hoja de <i>Artemisia annua</i> L. Flor de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. Hoja y raíz de <i>Paronychia argentea</i> Lam. 	<ul style="list-style-type: none"> Partes de las plantas contaminadas o con plaga

f) *Recursos humanos:*

Tesista:

Eileen Lendeche Escobar

Director de Tesis:

D.C. Ma. Dolores Castañeda Antonio

Codirector:

D.C. Alma López García

g) *Diseño estadístico:*

Comparar la eficacia antimicrobiana de diferentes extractos vegetales con ANOVA (paramétrica).

Materiales y Metodología

Materiales y reactivos:

- Material vegetal: Compra y obtención de las plantas frescas o secas
- Reactivos químicos:
- Solventes para la extracción: Hidroetanol (agua destilada-etanol, 50:50 v/v), etanol (alcohol etílico de caña 96°), cloroformo y hexano.

- Estándar de McFarland (estándar de 0.5)
- Medios de cultivo: (agar Mueller-Hinton, caldo Mueller-Hinton, caldo nutritivo, agar soya tripticaseína, medios de cultivo para identificación de bacterias)
- Tinción de Gram (colorantes: Cristal violeta, Lugol, Alcohol-acetona, Safranina)
- Cepas bacterianas: microorganismos donados del cepario del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas, BUAP.

Equipos:

- Autoclave
- Refrigerador
- Balanza analítica
- Bomba de vacío
- Estufa u horno
- Campana de humos
- Campana de flujo laminar
- Esterilizador eléctrico / lámpara de alcohol
- Microscopio
- Sonicador
- Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas (CG/EM)
- Espectrofotómetro
- Agitador de tubos y microplacas

En la tabla 2, se presentan las cepas bacterianas que se utilizarán para realizar la evaluación de la actividad antimicrobiana de los fitoextractos de *Artemisia annua L.*, *Hibiscus sabdariffa L.* y *Paronychia argentea Lam.*

Tabla 2. Materiales biológicos para la evaluación de la actividad antimicrobiana de los fitoextractos.

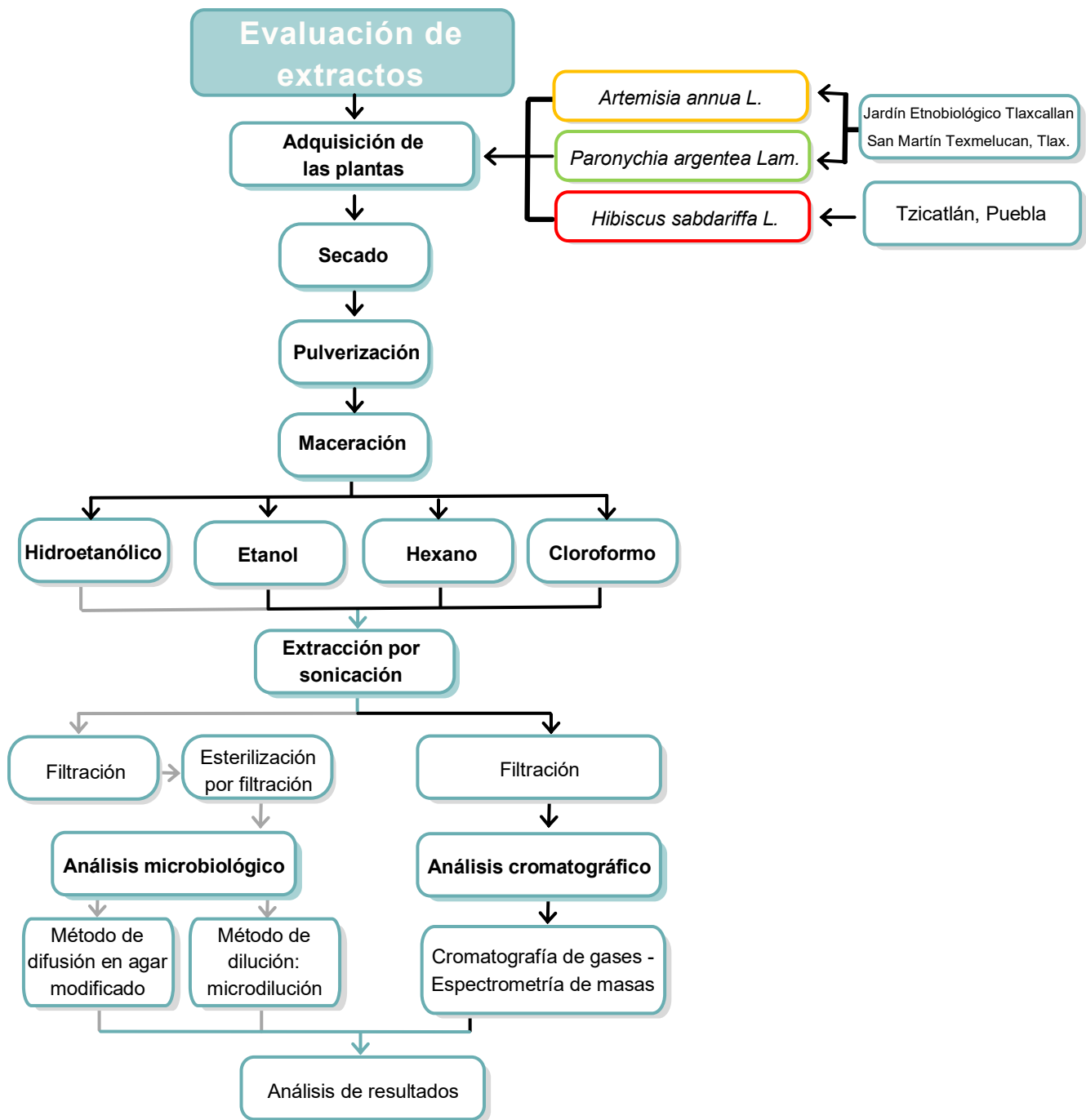
Materiales biológicos	
Cepas bacterianas	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella sp.</i> <i>Shigella sp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

Metodología

Diagrama de la metodología experimental

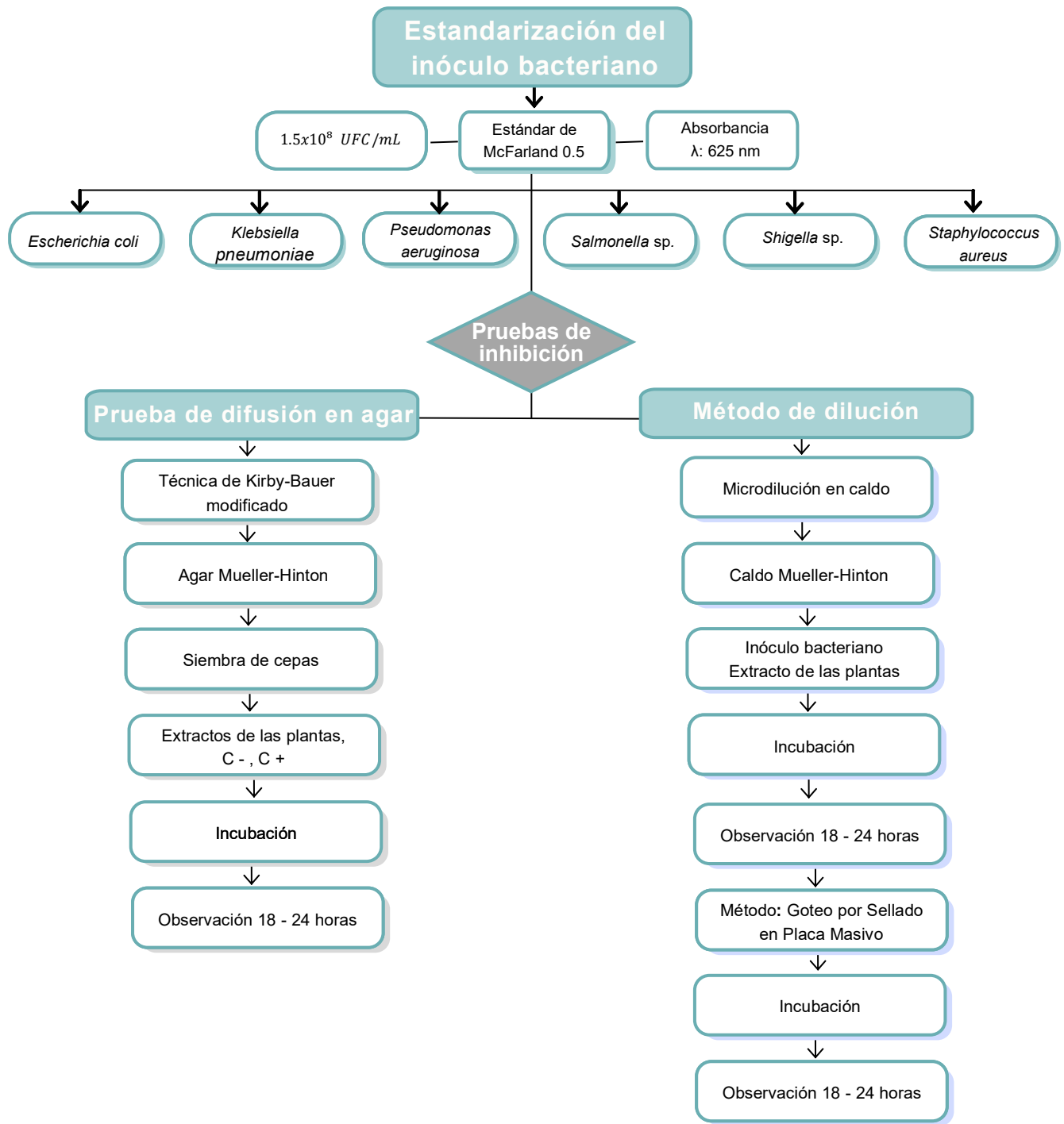
En el diagrama 1 se muestra la metodología general que se llevó a cabo para realizar la evaluación de actividad antimicrobiana y caracterización de los fitoextractos de las plantas de *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. frente a bacterias de importancia clínica como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp., *Staphylococcus aureus*. Como primer paso, se llevó a cabo la adquisición de las plantas *Artemisia annua* L. y *Paronychia argentea* Lam. en el jardín botánico de Tlaxcala y la planta *Hibiscus sabdariffa* L. se adquirió con los jamaíqueros de Tzicatlán, Puebla. Después, se obtuvieron los fitoextractos a través de la técnica de maceración y extracción por sonicación. A los extractos con el solvente hidroetanólico (50:50 v/v) se les realizó filtración gruesa, seguido de una esterilización mediante filtración para posteriormente realizar los ensayos microbiológicos, y a los extractos con los solventes etanol, hexano y cloroformo se les realizó el análisis cromatográfico.

Diagrama 1. Diagrama de la metodología general de la evaluación de los extractos mediante ensayos para el análisis microbiológico y cromatográfico.



En el diagrama 2 se muestra la estandarización del inóculo para realizar los ensayos del análisis microbiológico. Este proceso se llevó a cabo usando el estándar de 0.5 de McFarland, el cual se comparó la concentración de los inóculos bacterianos en unidades formadoras de colonias (UFC). Se midió la absorbancia de los inóculos de estudio a una longitud de onda de 625 nm. La finalidad de esta prueba estándar fue que los inóculos bacterianos se encuentren a la misma concentración [1.5×10^8 UFC/mL] para sembrar en las placas Petri con agar Müeller-Hinton, que es el medio de cultivo estandarizado para las pruebas de inhibición. El primer ensayo para la prueba de inhibición fue el de difusión en agar mediante la técnica de Kirby-Bauer modificado, que consistió en sembrar de forma masiva cada microorganismo en su placa correspondiente, dejar impregnar la cepa, colocar 4 μ L de cada uno de los tres extractos de plantas, del control negativo y del control positivo que es el control farmacológico con una concentración de 30 mg/mL, obteniendo 6 gotas con un volumen de 4 μ L cada una en la placa Petri. Después, se incubaron a 35°C y se observaron de 18 a 24 h., (Balouiri *et al.*, 2016; Salam *et al.*, 2023; Xiu *et al.*, 2023; Webber *et al.*, 2022; Wenzler *et al.*, 2023; CLSI, 2024). Por otro lado, se realizó el segundo ensayo que consistió en el método de dilución (microdilución) para conocer la concentración mínima inhibitoria de los fitoextractos, donde se agregó a cada pocillo de la microplaca caldo Mueller-Hinton, extracto de planta e inóculo bacteriano, para posteriormente realizar las diluciones seriadas correspondientes. Se incubó a 35°C y se observó durante 18 a 24 h. Finalmente, se realizó la metodología de goteo por sellado en placa masivo para conocer la concentración mínima inhibitoria de los fitoextractos (Corral-Lugo *et al.*, 2012; Xiu *et al.*, 2023; CLSI, 2024).

Diagrama 2. Estandarización del inóculo y pruebas de inhibición por el método de difusión en agar mediante la técnica de Kirby-Bauer modificado y método de dilución por microdilución para el análisis microbiológico de los extractos en estudio.



A continuación, se detalla cada paso de la metodología experimental que se realizó para la evaluación de los extractos de interés (figura 28).

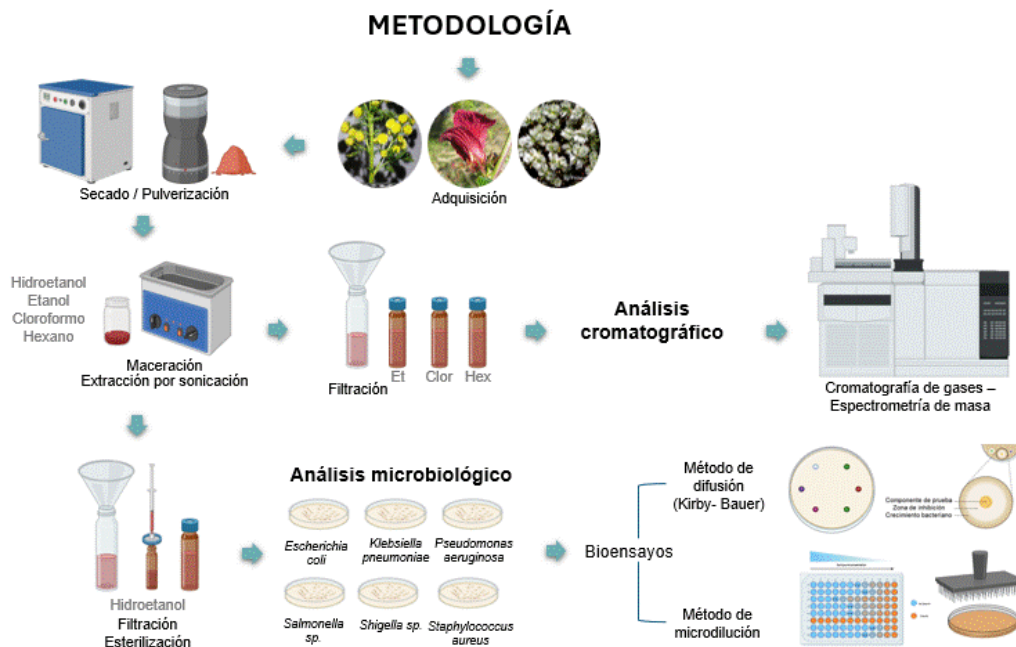


Figura 28. Diagrama general de la metodología experimental para la evaluación antimicrobiana de los fitoextractos.

Adquisición de las plantas

La adquisición de las plantas de *Artemisia annua* L. (flor, tallo y hoja) y *Paronychia argentea* Lam. (hoja y raíz) se llevó a cabo en el mes de octubre del 2024 en el jardín botánico de Tlaxcala (Jardín Etnobiológico Tlaxcallan) y la planta *Hibiscus sabdariffa* L. (flor) se adquirió en el mes de octubre del 2024 con los jamaiqueros de Tzicatlán, Puebla. En las figuras 29 y 30 se muestra el mapa del lugar donde se obtuvieron las plantas.



Figura 29. Ubicación del Jardín Etnobiológico Tlaxcallan donde se adquirieron las plantas: *Artemisia annua* L. y *Paronychia argentea* Lam.

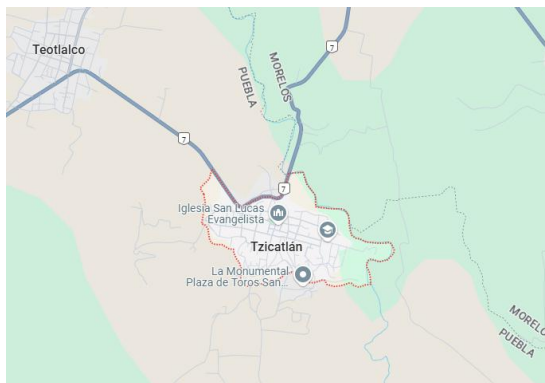


Figura 30. Ubicación de la región donde se cultiva y vende la planta *Hibiscus sabdariffa* L.

Proceso de secado y pulverización del material vegetal

Se limpiaron cuidadosamente las plantas para eliminar insectos o piedras. Posteriormente, se colocó la muestra en charolas de aluminio, procurando distribuir las de manera uniforme para permitir una correcta circulación de aire. Se introdujeron las charolas en la estufa de secado, previamente ajustada a 50°C durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo, se retiraron las muestras y se verificó que estuvieran completamente secas, crujientes y sin humedad visible (figura 31). A continuación, se trituraron en un molino eléctrico hasta obtener un polvo fino con la finalidad de reducir el tamaño de la muestra y tener más área de interacción con el solvente de extracción (Xiu *et al.*, 2023). Finalmente, se almacenaron en bolsas herméticas protegidas de la luz y la humedad hasta su posterior uso (figuras 32 y 33).



Figura 31. Proceso de secado de la planta de *Artemisia annua* L. Izquierda: antes de secar y Derecha: después de secar.



Figura 32. Plantas trituradas y pulverizadas. a) *Artemisia annua* L., b) *Hibiscus sabdariffa* L., c) *Paronychia argentea* Lam.

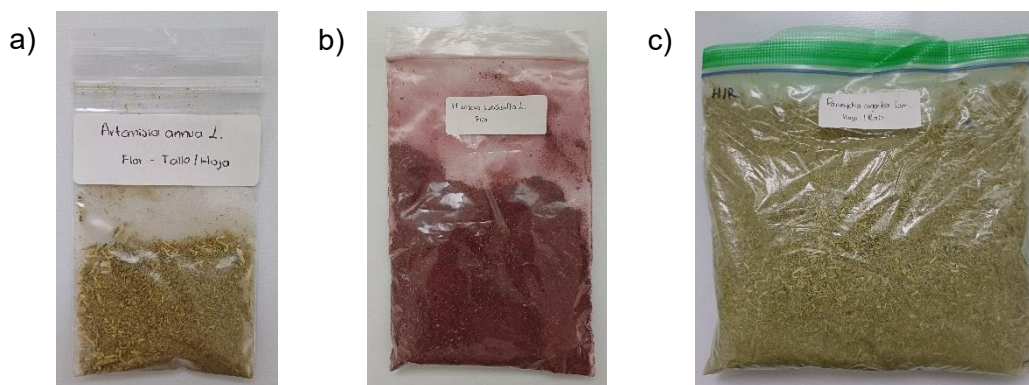


Figura 33. Plantas trituradas en bolsa hermética para su posterior uso. a) *Artemisia annua* L., b) *Hibiscus sabdariffa* L., c) *Paronychia argentea* Lam.

Obtención de extractos

Para obtener los diferentes extractos con los que se trabajó se seleccionaron las plantas *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. Se pesaron 2 gramos de muestra pulverizada de cada planta para la obtención de los cuatro diferentes extractos a trabajar mediante maceración con los siguientes solventes: hidroetanol, etanol, hexano y cloroformo. En las figuras 34 – 36, se muestra el pesaje de las muestras vegetales.



Figura 34. Muestra pesada de *Artemisia annua* L.



Figura 35. Muestra pesada de *Hibiscus sabdariffa* L.

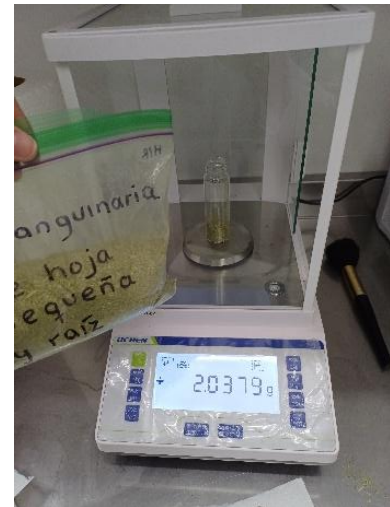


Figura 36. Muestra pesada de *Paronychia argentea* Lam.

Extracción de fitoextractos por maceración

La obtención de los extractos hidroetanólico, etanólico, hexánico y cloroformico de las plantas se realizó por maceración (figura 37 – 40). Una vez teniendo la materia vegetal pesada en el recipiente de vidrio, se colocó el solvente seleccionado hasta cubrir 2 mm por encima del nivel de la materia vegetal. Se dejó macerar durante 24 horas a temperatura ambiente, agitando ocasionalmente para favorecer la extracción de los fitocompuestos.

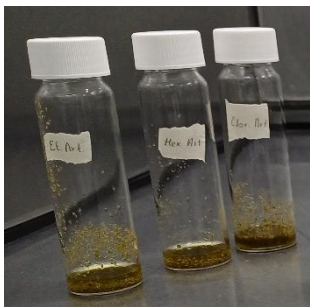


Figura 37. Extractos etanólico, hexánico y cloroformico de *Artemisia annua* L.

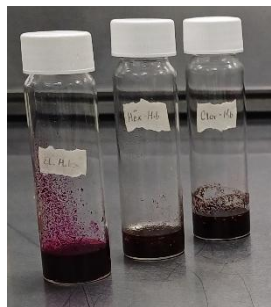


Figura 38. Extractos etanólico, hexánico y cloroformico de *Hibiscus sabdariffa* L.

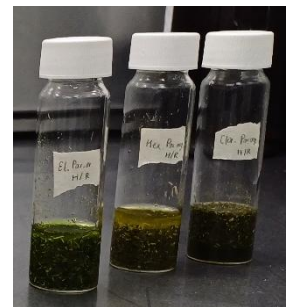


Figura 39. Extractos etanólico, hexánico y cloroformico de *Paronychia argentea* Lam.

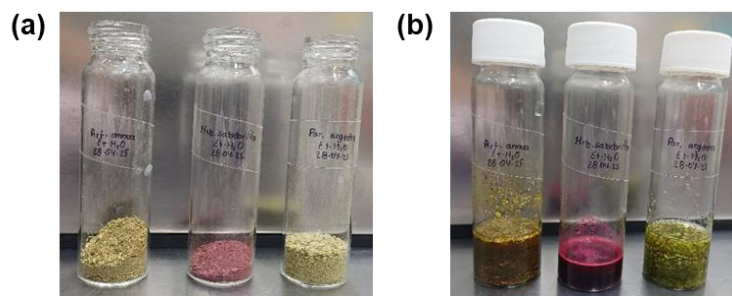


Figura 40. Extractos de plantas: a) Recipientes con 2 g de cada materia vegetal (*Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam.) y b) Materia vegetal con solvente hidroetanólico para las pruebas de inhibición antimicrobiana.

Extracción asistida por ultrasonido (EAU) o por sonicación

Los extractos fueron obtenidos a través de dos métodos de extracción, inicialmente por maceración y posteriormente mediante extracción asistida por ultrasonido. Para realizar este método se utilizaron los extractos obtenidos por maceración, los frascos con el material vegetal y el solvente se colocaron en un sonicador (Sunne) a una temperatura de 25°C durante 10 minutos (figura 41 y 42). Este método permitió una extracción más eficiente mediante la cavitación generada por las ondas ultrasónicas, por lo cual mejoró la extracción de fitocompuestos que se obtuvo por maceración (Xiu *et al.*, 2023).



Figura 41. Sonicador (Sunne) para la extracción de fitocompuestos.

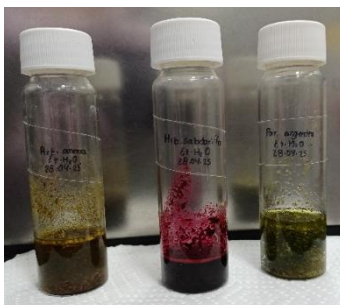


Figura 42. Extracción de extractos vegetales por extracción asistida por ultrasonido (EAU), de izquierda a derecha: *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam.

Filtración para análisis cromatográfico y análisis microbiológico

Para la identificación de fitocompuestos y evaluación de los fitoextractos se llevó a cabo una separación que consiste en filtrar la extracción sólido-líquido con ayuda de papel filtro, hasta enjuagar bien la materia vegetal con el mismo solvente de extracción. En la figura 43 se recolectó el filtrado en un vial previamente estéril (Cano, 2022; Xiu *et al.*, 2023).



Figura 43. Filtrado no esterilizado de extractos hidroetanólicos de plantas, de izquierda a derecha: *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam.

Esterilización del extracto vegetal para el análisis microbiológico

Para la evaluación de la actividad antimicrobiana de los fitoextractos, se realizó un primer filtrado para retirar la materia vegetal. Posteriormente, se efectuó una esterilización mediante filtración utilizando un portafiltros con membrana de filtración de ésteres de celulosa mixta (MCE) de 0.22 μm , con el objetivo de obtener un fitoextracto filtrado y estéril. Previamente, todo el material empleado en el proceso fue esterilizado en autoclave a 121°C durante 15 minutos (Shyam & Palaniappan, 2023; Xiu *et al.*, 2023; Qi *et al.*, 2025). El filtrado estéril se recolectó en un vial estéril, empleando una bomba de vacío para acelerar el proceso de recolección del fitoextracto (figura 44 y 45).



Figura 44. Esterilización mediante un filtrado.

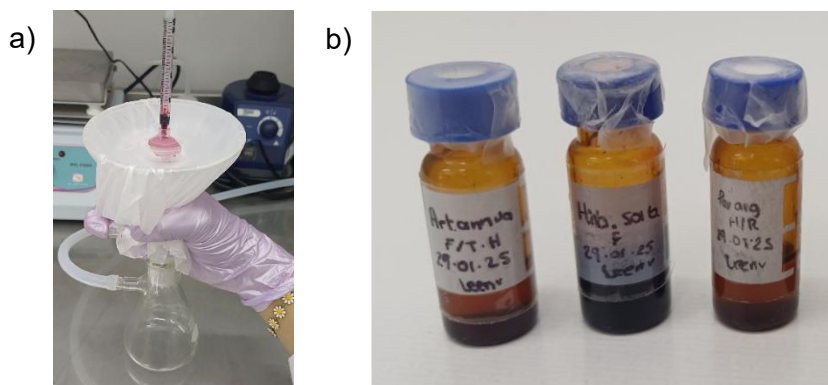


Figura 45. Esterilización por filtrado: a) Esterilización mediante un filtrado con un portafiltro de jeringa y uso de bomba de aire, b) Viales con extracto o filtrado estéril, de izquierda a derecha: *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam.

Identificación de compuestos mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM)

La caracterización de los extractos obtenidos se realizó con ayuda de un cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890A acoplado a un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C (figura 46). Se utilizó una columna Zebron ZB-50 (30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interior y 0.25 μm de espesor de la película de fase estacionaria) para la separación de los componentes de los extractos. Las condiciones de cromatografía de gases (CG) establecidas para el análisis fueron las siguientes:

Rampa de temperatura inicial: 60°C/1min, 12°C/min, 194°C/2min

Segunda rampa de temperatura: 10°C/1min, 295°C/4min.

Temperatura del inyector: 250°C

Temperatura del horno de la columna (inicial): 60°C (mantener 3 min)

Caudal de helio: 1.3 mL/min

La adquisición y el procesamiento de datos se realizaron mediante el software Agilent ChemStation y se empleó la biblioteca de espectros de masas del NIST 08 (Instituto Nacional de Normas y Tecnología) para la identificación de los componentes en los fitoextractos.

Para tal fin, se llevó a cabo la inyección de 1 μL de muestra de cada extracto a través del puerto de inyección del cromatógrafo de gases (figura 47). Después del análisis de la muestra se obtiene el cromatograma (figura 48).



Figura 46. Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890A acoplado a un espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.

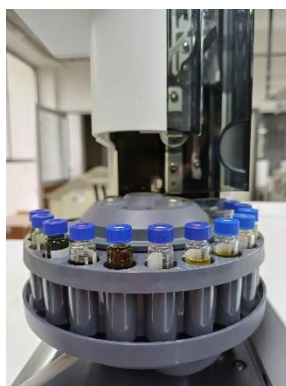


Figura 47. Carrusel con muestras para la toma de muestra (1 μ L) por el puerto de inyección y la identificación de fitocompuestos.

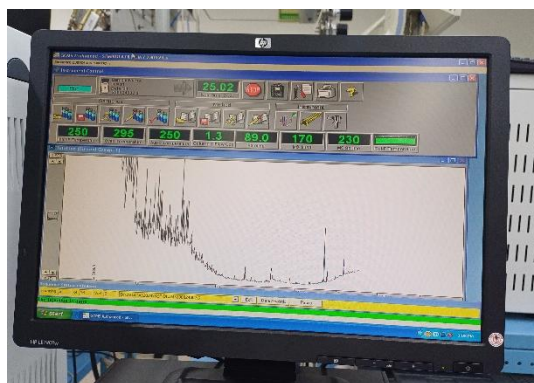


Figura 48. Cromatograma obtenido de una muestra en cromatografía de gases Agilent Technologies 7890A.

Preparación del material

Preparación de medios de cultivos

De acuerdo con las directrices establecidas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2024) para la evaluación de la sensibilidad antimicrobiana se utilizó agar Mueller-Hinton (BD Bioxon, 450 g) como medio de cultivo, el cual se preparó siguiendo las instrucciones proporcionadas por el fabricante (figura 49).

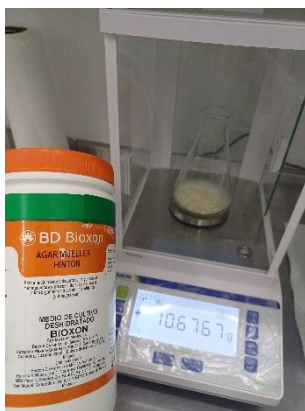


Figura 49. Proceso de pesaje para la preparación del medio de cultivo de agar Mueller-Hinton.

Por otro lado, la inoculación de las suspensiones bacterianas se realizó a partir de un crecimiento de las cepas en agar nutritivo de 24 h. La preparación del caldo nutritivo se llevó a cabo conforme a las instrucciones del fabricante (figuras 50 - 52).

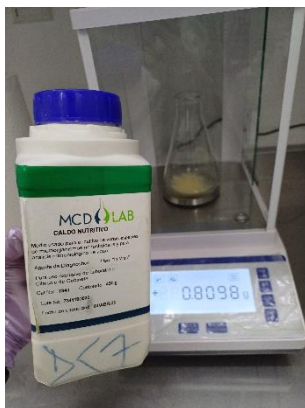


Figura 50. Proceso de pesaje para la preparación del caldo nutritivo.

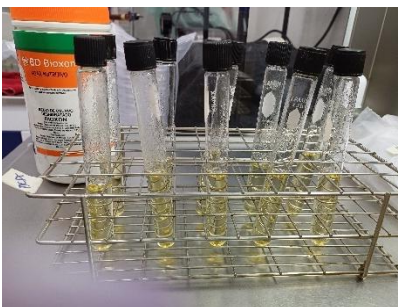


Figura 51. Tubos con 10 mL de caldo nutritivo para esterilizar en autoclave.



Figura 52. Esterilización de medios de cultivo y material requerido para la evaluación antimicrobiana.

Suspensiones bacterianas en caldo nutritivo

Las cepas empleadas fueron las siguientes:

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Salmonella* sp.
- *Shigella* sp.
- *Staphylococcus aureus*

Se incubaron las cepas en caldo a 30°C durante 16 - 18 horas (figuras 53 – 54).

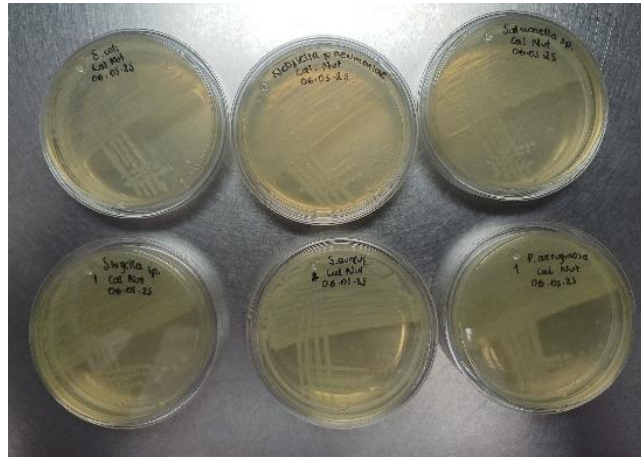


Figura 53. Cepas aisladas en agar nutritivo.

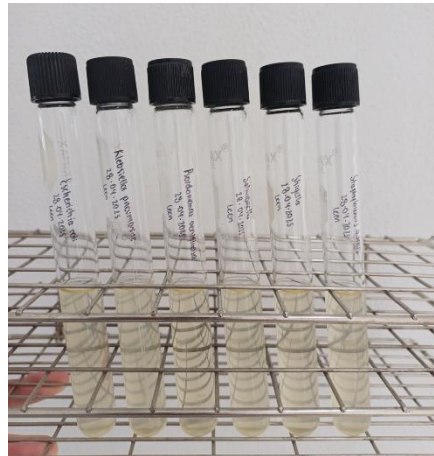


Figura 54. Cepas inoculadas en caldo nutritivo a partir de cepas en agar nutritivo (figura 53), de izquierda a derecha: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Staphylococcus aureus*.

Preparación de estándares de McFarland

Se prepararon los estándares de McFarland (figura 55), para elaborar una curva de calibración y estandarizar la concentración del inóculo bacteriano al estándar de McFarland de 0.5 de turbidez, a partir del cual se ajustaron las suspensiones de las cepas a estudiar para los retos microbiológicos.

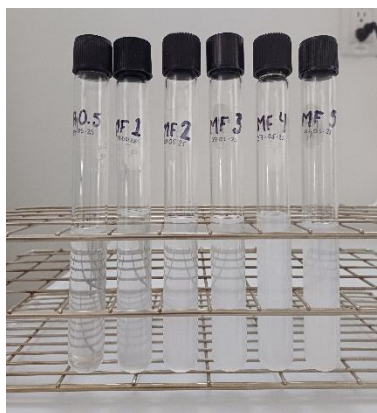


Figura 55. Preparación de los estándares de McFarland en el laboratorio. Imagen que muestra tubos de ensayo con 1% de cloruro de bario y 1% de ácido sulfúrico.

Se leyeron las absorbancias de los estándares de McFarland a una longitud de onda (λ) de 625 nm en el espectrofotómetro (TAISITE) (figura 56) usando una celda de vidrio. Entre cada lectura de cada estándar de McFarland se realizaron tres enjuagues consecutivos de la celda utilizando agua destilada, para posteriormente realizar la curva de calibración y conocer la ecuación de la recta (Balouiri *et al.*, 2016; Webber *et al.*, 2022; CLSI, 2024; Mahesh *et al.*, 2025).

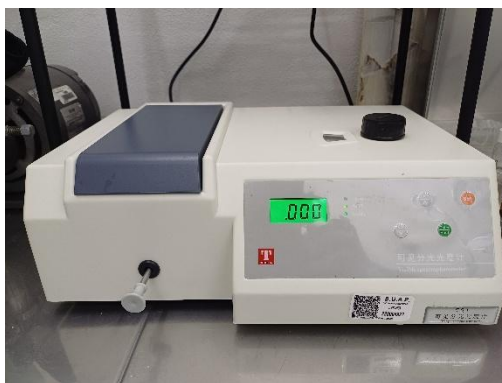


Figura 56. Espectrofotómetro (TAISITE) utilizado para la medición de absorbancia a una longitud de onda de 625 nm.

Preparación y estandarización de inóculos

Una vez transcurrido el tiempo de incubación de las cepas que se inocularon en caldo nutritivo se leyó la absorbancia a una longitud de onda (λ) de 625 nm en el espectrofotómetro usando una celda de vidrio.

Con la ecuación de la recta obtenida con las lecturas de la absorbancia de cada estándar de McFarland se determinó la concentración real bacteriana de cada tubo con caldo nutritivo.

La concentración bacteriana para una prueba de inhibición debe ser estandarizada de 1.5×10^8 UFC/mL (similar a un estándar de 0.5 de McFarland), para ello se realizaron diluciones con solución salina estéril en un tubo estéril para obtener la concentración adecuada (figura 57).

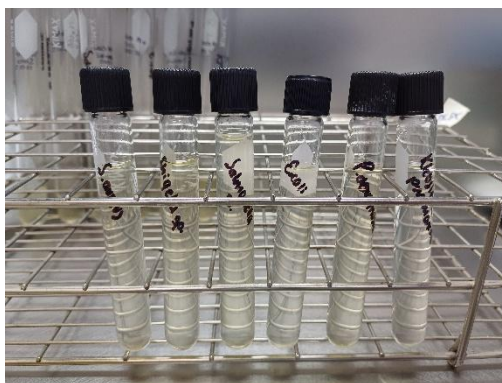


Figura 57. Suspensión bacteriana a 0.5 de McFarland, de izquierda a derecha: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Staphylococcus aureus*.

Pruebas de inhibición antimicrobiana

Método de difusión en agar

Las pruebas se realizaron mediante el método de difusión en agar con la técnica de Kirby-Bauer modificado.

Una vez que se realizó la estandarización bacteriana de las cepas mencionadas, en zona de esterilidad y en la campana de flujo laminar, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión bacteriana, se dejó escurrir dos veces en las paredes del tubo de vidrio y se realizó un sembrado masivo en la placa correspondiente de manera uniforme para el crecimiento del microorganismo, se dejó que se impregnará al medio entre 10 a 15 segundos. Una vez transcurrido el tiempo establecido, se dispensó una gota de 4 μ L de cada extracto, control positivo (azitromicina y cefotaxima a una concentración de 30 mg/mL) y control negativo (solvente) con ayuda de una micropipeta en la zona correspondiente. Esta operación se realizó por triplicado (tabla 3). Los extractos y controles se observan en la figura 58 y en la figura 59 se puede visualizar la distribución de los extractos en la placa Petri para su evaluación.

Se incubaron las placas a 30°C durante 18 a 24 horas para observar si se obtenían resultados de inhibición de crecimiento de los microorganismos evaluados (figura 60) (Bauer *et al.*, 1966; Webber *et al.*, 2022; CLSI, 2024).

Tabla 3. Extractos de plantas, controles positivos y control negativo para los antibiogramas. Nota: *Artemisia annua* L. F - T/H (Flor – Tallo-Hoja), *Hibiscus sabdariffa* L. F (Flor), *Paronychia argentea* Lam. H/R (Hoja/Raíz).

Extractos de plantas	Extracto 1	<i>Artemisia annua</i> L. F – T/H	4µL
	Extracto 2	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. F	4µL
	Extracto 3	<i>Paronychia argentea</i> Lam. H/R	4µL
Control positivo	Fármaco 1	Azitromicina, 30 mg/mL	4µL
	Fármaco 2	Cefotaxima, 30 mg/mL	4µL
Control negativo	Solvente (50:50 v/v)	Etanol - agua	4µL



Figura 58. Viales de extractos hidroetanólicos estériles, controles positivos y control negativo. Izquierda a derecha: *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam., cefotaxima (30 mg/mL), azitromicina (30 mg/mL) y control negativo (etanol:agua (50:50 v/v)).

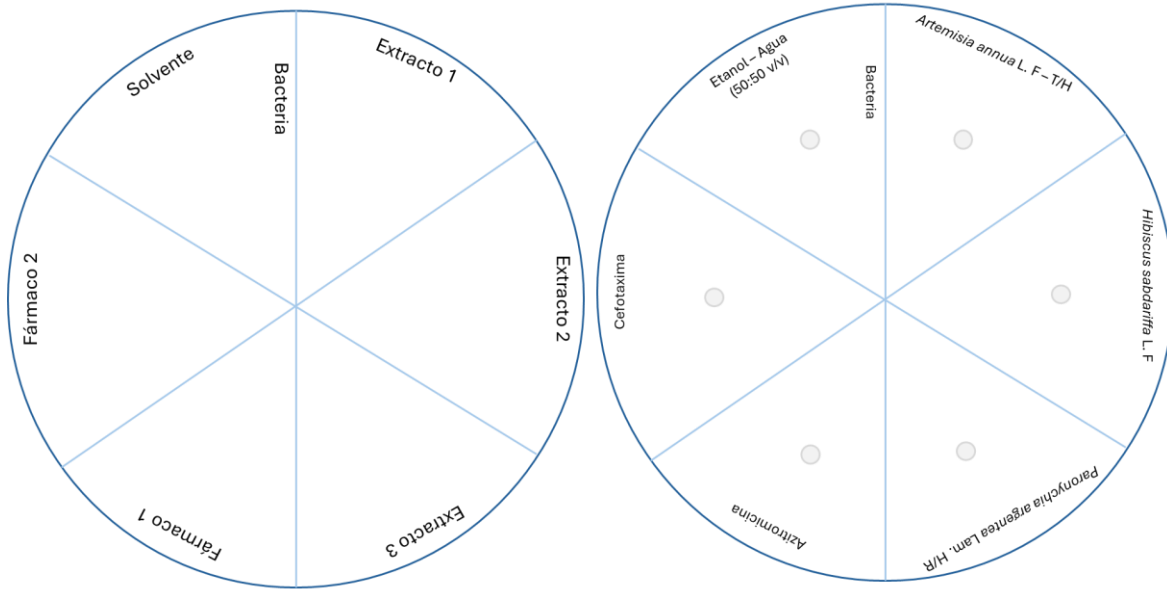


Figura 59. Izquierda: Placa Petri rotulada. Derecha: Distribución de las gotas de extractos, controles positivos y control negativo para las pruebas de inhibición mediante la técnica de Kirby-Bauer modificado.



Figura 60. Incubación de las placas a 30°C durante 18 - 24 horas.

Tras el tiempo de incubación, se observaron las placas y se tomaron las medidas de los halos de inhibición de los extractos y controles que presentaron efecto inhibitorio mediante el uso de la aplicación “ImageJ” (figura 61).

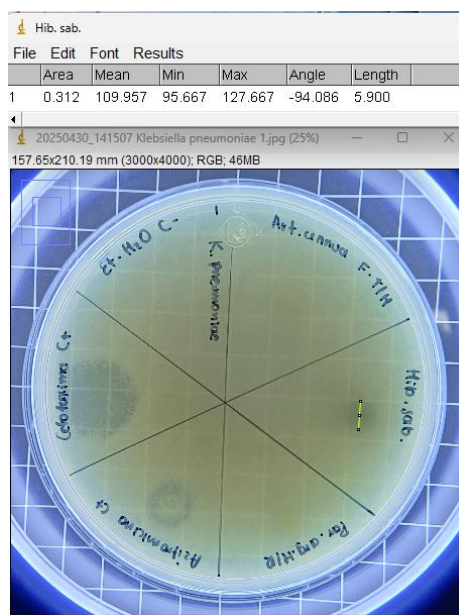


Figura 61. Ejemplo de medida del halo de inhibición (5.900 mm) del extracto hidroetanólico de *Hibiscus sabdariffa* L. frente a *Klebsiella pneumoniae*, en la aplicación ImageJ.

Análisis de datos

Los datos y promedios de los halos de inhibición se ordenaron con el programa Microsoft Excel, Microsoft 365 MSO (versión 2507), y el análisis estadístico con Minitab Statistical Software 22. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA, $p = 0.05$) de un factor para comparar la actividad antimicrobiana de los extractos y la prueba de Tukey, para determinar diferencias significativas, con un nivel de confianza simultanea del 95%, que es igual a una tasa de error de 0.05.

Para determinar las diferencias significativas entre los valores promedio de los halos de inhibición se utilizó el método de hipótesis nula (H_0): todas las medias son iguales y la hipótesis alterna (H_1): no todas las medias son iguales; con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Un valor de $p < 0.05$ indicó una diferencia significativa estadísticamente (se rechaza H_0 y se acepta H_1) (Minitab, 2025).

Microdilución en caldo

Para conocer la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los tres extractos frente a las bacterias sensibles se realizó la técnica de microdilución en caldo.

Se preparó 75 mL de caldo Mueller-Hinton (Millipore®, figura 62 y 63).



Figura 62. Caldo Mueller-Hinton.



Figura 63. Proceso de pesaje para la preparación de caldo Mueller-Hinton.

Los extractos iniciales se diluyeron 1:2 respecto a su concentración con solvente hidroetanólico en un vial previamente esterilizado (figura 64), para obtener la cantidad de extracto necesaria para la concentración inicial (512 mg/mL) en la microplaca (CLSI, 2024).



Figura 64. Viales con dilución 1:2 de los extractos iniciales. De izquierda a derecha: *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam.

Como se mencionó anteriormente, se realizaron suspensiones bacterianas a 0.5 de McFarland de las bacterias que fueron sensibles a los extractos correspondientes en el método de difusión

en agar: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp. y *Staphylococcus aureus*.

Una vez esterilizada la microplaca (esterilización con luz ultravioleta durante 1 hora), se procedió a colocar en la columna 1 el volumen correspondiente de cada extracto a una concentración de 512 mg/mL (figura 65). Después, se realizaron diluciones 1:2 en los siguientes pocillos hasta obtener 2 mg/mL del extracto y se agregó el caldo Mueller-Hinton hasta aforar a 300 μ L (CLSI, 2024).

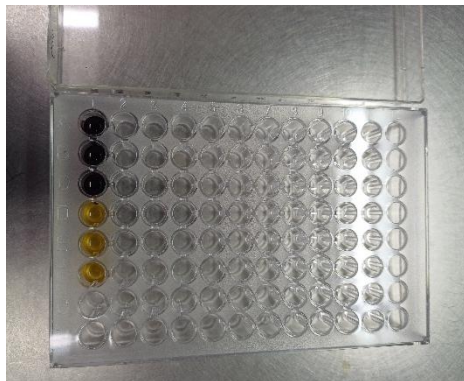


Figura 65. Microplaca para la evaluación de extractos en *Escherichia coli*. Columna 1: extractos a 512 mg/mL y caldo Mueller-Hinton, Fila A – C: extracto de *Hibiscus sabdariffa* L. y Fila D – F: extracto de *Paronychia argentea* Lam.

Se agregaron 150 μ L de caldo Mueller-Hinton a toda la fila y columna 1-12, excepto a la columna 10, la cual se excluyó para diferenciar los controles. El control de crecimiento que fue el caldo e inóculo bacteriano (columna 11) sirve para verificar que el microorganismo de estudio es viable bajo las condiciones del ensayo y el control donde únicamente se pone el caldo (columna 12) sirve para confirmar que el medio de cultivo está estéril, figura 66.

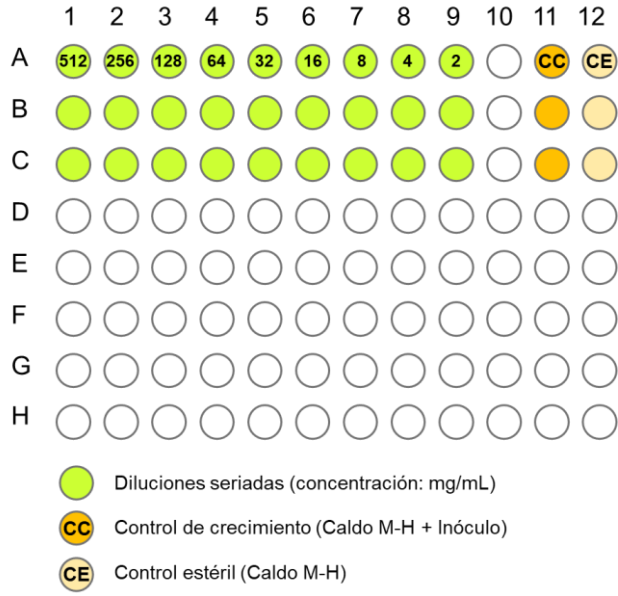


Figura 66. Esquema de microplaca con las concentraciones correspondientes en cada pocillo de un extracto a evaluar y los controles de crecimiento y esterilidad.

Después se adicionaron 10 μL de la suspensión bacteriana con una concentración de 1.5×10^8 UFC/mL, correspondiente a los extractos a evaluar (columna 1 a 11, excepto 10), quedando cada pocillo con un volumen total de 160 μL . La evaluación de cada extracto se realizó por triplicado para cada bacteria correspondiente (figura 67). Finalmente, se incubaron a 30°C durante 18 horas en agitación con el agitador de microplacas GyroTwister de Labnet (figura 68).

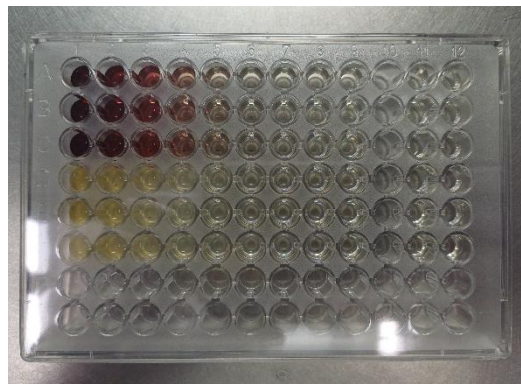


Figura 67. Microplaca terminada para la evaluación de extractos de *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam., en *Escherichia coli*.



Figura 68. Proceso de agitación durante la incubación de microplacas en el agitador GyroTwister de Labnet.

Una vez transcurrido el tiempo establecido se observaron los pocillos y se realizó la técnica de sellado o estampado de diluciones seriadas de muestras o también conocida como “Goteo por Sellado en Placa Masivo”, para cuantificar bacterias cultivables de forma masiva, rápida y económica. Con un replicador se tomó un volumen (aproximadamente 1.65 μ l) de muestra de cada pocillo y se inoculó por sellado en medio de crecimiento gelificado de interés (medio Mueller-Hinton) (figura 69). Las placas se incubaron de 18 – 24 horas (figura 70), y se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada extracto correspondiente a la cepa (Corral-Lugo *et al.*, 2012).

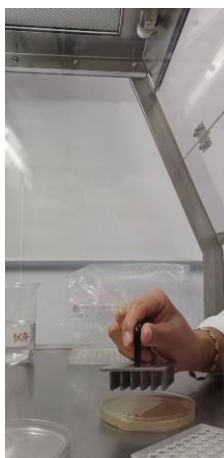


Figura 69. Sellado de inóculo de cada pocillo de la microplaca en medio Mueller-Hinton.

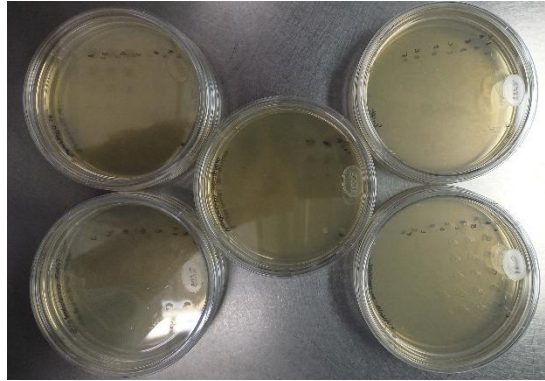


Figura 70. Placas selladas del inóculo de cada pocillo de la microplaca mediante la metodología de “Goteo por Sellado en Placa Masivo” para conocer la concentración mínima inhibitoria de los fitoextractos frente a las bacterias sensibles.

A continuación, se presenta un esquema para conocer la concentración mínima inhibitoria de los extractos que se evaluaron (figura 71).

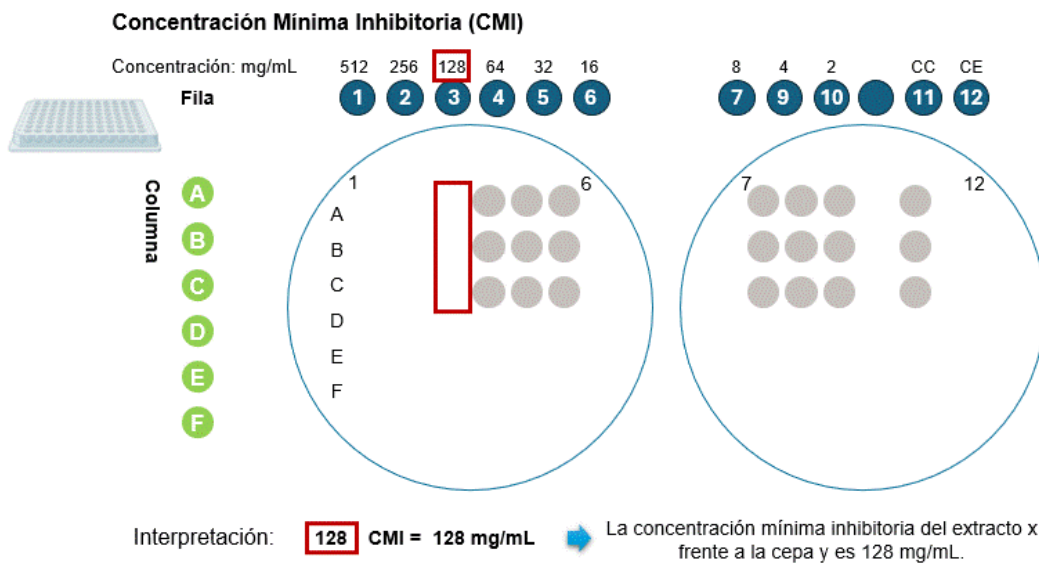


Figura 71. Interpretación de la técnica de sellado para conocer la CMI de los fitoextractos evaluados.

Resultados y Discusión

Concentraciones obtenidas de los diferentes extractos

Las concentraciones obtenidas de los extractos hidroetanólicos (agua-etanol, 50:50 v/v) de *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam., mediante la extracción por maceración y asistida por ultrasonido se detallan en la tabla 4. Las concentraciones se muestran en concentración clínica expresada en g/mL o mg/mL y en concentración fitoquímica expresada en relación droga – extracto (RDE). De acuerdo con Cañigueral & Vanaclocha (2025), los extractos que se analizaron en este estudio se consideran como extractos secos debido a que era mayor la cantidad de droga vegetal que la cantidad de extracto obtenido. Es importante establecer las concentraciones a las que los metabolitos presentes en las plantas resultan eficaces para ejercer su función biológica antibacteriana.

Tabla 4. Concentraciones de los extractos hidroetanólicos de *Artemisia annua* L. F - T/H (Flor – Tallo-Hoja), *Hibiscus sabdariffa* L. F (Flor), *Paronychia argentea* Lam. H/R (Hoja/Raíz). *La concentración en relación droga-extracto (RDE) es en g:mL.

Planta	Materia vegetal		Solvente		[Clínica]		[Fitoquímica]
	Peso		Volumen				Relación droga – extracto (RDE)*
	g	mg	mL	L	g/mL	mg/mL	n:n
<i>Artemisia annua</i> L. F - T/H	2.0498	2049.8	1	0.001	2.0498	2049.8	2:1
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. F	2.0656	2065.6	1	0.001	2.0656	2065.6	2:1
<i>Paronychia argentea</i> Lam. H/R	2.0379	2037.9	1	0.001	2.0379	2037.9	2:1

Nota: Con relación a la concentración fitoquímica, n:n: Cantidad de droga vegetal : Cantidad de extracto.

Identificación de cepas bacterianas

Las cepas bacterianas fueron donadas por el cepario del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas, BUAP. No obstante, para su corroboración e identificación se realizaron pruebas bioquímicas a las bacterias, considerando los criterios de Cowan y Steel, tales como la tinción de Gram, metabolismo, producción de catalasa y oxidasa,

movilidad, crecimiento y producción de ácido a partir de glucosa. Los resultados se visualizan en el anexo 1.

En la tabla 5 y 6 se presentan los resultados de la identificación de las cepas, los cuales se corroboraron con lo reportado por Romero (2024). Los microorganismos de estudio fueron *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Tabla 5. Resultados de pruebas bioquímicas para la identificación de los microorganismos de estudio gramnegativos. Los resultados se corroboraron con lo reportado por Romero (2024).

Bacteria gramnegativa	LAC	CAT	OXI	TSI			LIA			MIO			CIT	URE
				/	H ₂ S	GAS	DESAM	DESCAR	H ₂ S	MOV	IND	ORN		
<i>E. coli</i>	+	+	-	A/A	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-
<i>K. pneumoniae</i>	+	+	-	A/A	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Salmonella sp.</i>	-	+	-	K/A	+	-	-	+	+	+	-	+	+	-
<i>Shigella sp.</i>	-	+	-	K/A	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	+	+	K/sc	-	-	/sc	/sc	-	+	-	/sc	+	-

Nota: LAC, Lactosa; CAT, Catalasa; OXI, Oxidasa; Producción de H₂S: sulfuro de hidrógeno y gas; DESAM: Desaminación de Lisina; DESCAR: Descarboxilación de Lisina; MOV, Movilidad; IND, Indol; ORN, Ornitina; CIT, Citrato; URE, Ureasa; MET, /sc: sin cambio.

Para la identificación de la bacteria grampositiva, se realizó la determinación de manitol, producción de catalasa y oxidasa, y presencia de desoxirribonucleasa (DNasa); los resultados se corroboraron con lo que reporta Romero (2024).

Tabla 6. Resultados de pruebas bioquímicas para la identificación del microorganismo de estudio grampositivo.

Bacteria grampositiva	CAT	OXI	SAL Y MANITOL	DNasa
<i>S. aureus</i>	+	-	+	+

Nota: CAT, Catalasa; OXI, Oxidasa. *Fermentador de manitol. ** Presencia de enzima desoxirribonucleasa (DNasa).

Estandarización del inóculo bacteriano

La estandarización del inóculo bacteriano se realizó con ayuda de una curva de calibración de los estándares de McFarland para ajustar y estandarizar los inóculos bacterianos al estándar de 0.5 de McFarland con una concentración de 1.5x10⁸ UFC/mL. En la tabla 7 se

muestran las absorbancias de cada estándar de McFarland que se tomaron en cuenta para generar la curva de calibración.

Tabla 7. Resultados de absorbancia de los estándares de McFarland para la curva de calibración y estandarización de los inóculos bacterianos.

Estándar McFarland	0.5	1	2	3	4	5
Cloruro de Bario ($BaCl_2$) al 1% (mL)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Ácido Sulfúrico al 1% (H_2SO_4) (mL)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5
ρ aprox. del recuento celular (UFC/mL)	1.5×10^8	3.0×10^8	6.0×10^8	9.0×10^8	12.0×10^8	15.0×10^8
Absorbancia o Densidad óptica (D.O) ($\lambda = 625 \text{ nm}$)	0.042	0.195	0.382	0.596	0.794	0.886

En la figura 72 se muestra la curva de calibración obtenida para los estándares de McFarland, la cual exhibe una relación lineal positiva entre la densidad celular y la absorbancia a longitud de onda de 625 nm ($R^2 = 0.9851$). El alto coeficiente de correlación indica que la absorbancia puede emplearse de forma confiable para estimar la concentración bacteriana.

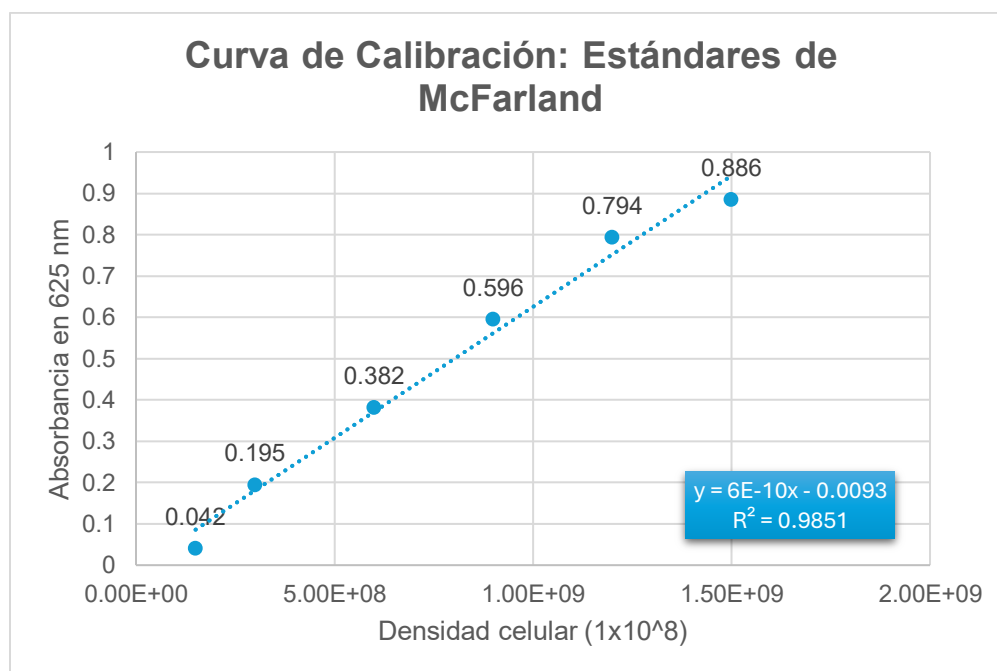


Figura 72. Curva de calibración de los Estándares de McFarland.

Posteriormente, con la ecuación de la recta ($y = 6E - 10x + 0.0093$) y despejando x se estimó la densidad celular a partir de las absorbancias de los inóculos preparados de las cepas bacterianas (tabla 8), estandarizando el inóculo a una concentración de 1.5×10^8 UFC/mL con solución salina estéril (0.5 de McFarland).

Tabla 8. Concentraciones de los inóculos bacterianos a partir de la ecuación de la recta (figura 72) para la estandarización a 0.5 del estándar de McFarland (1.5×10^8 UFC/mL), CLSI.

Bacteria	Absorbancia ($\lambda = 625$ nm)	Concentración (UFC/mL)
<i>Escherichia coli</i>	0.282	4.86×10^8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.290	4.99×10^8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.154	2.72×10^8
<i>Salmonella</i> sp	0.206	3.59×10^8
<i>Shigella</i> sp	0.168	2.96×10^8
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.242	4.19×10^8

Actividad antimicrobiana de los fitoextractos

Ensayos antibacterianos de extractos de *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. en organismos de prueba bacterianos

Método de difusión en agar con la técnica de Kirby-Bauer modificado

En las figuras 73 – 78, se muestran los efectos inhibitorios de los retos microbiológicos de los extractos hidroetanólicos (50:50 v/v) frente a cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Staphylococcus aureus*. La prueba del ensayo por triplicado se visualiza en el anexo 2.

El control positivo fue azitromicina para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *S. aureus*. y cefotaxima para *P. aeruginosa*. El control negativo demostró no intervenir en la inhibición bacteriana de los extractos obtenidos. Por lo cual, se asegura que la inhibición que se observa es por la presencia de compuestos bioactivos con capacidad antimicrobiana en los fitoextractos.

A simple vista, el control positivo demostró mejor actividad inhibitoria que los extractos. No obstante, los fármacos son compuestos puros en dosis conocidas (30 mg/mL) y efectivas para el tratamiento de infecciones, mientras que los extractos vegetales poseen múltiples

compuestos que diluyen la concentración del componente bioactivo principal. Esto puede reflejarse en la reducción del halo de inhibición contra los microorganismos estudiados.

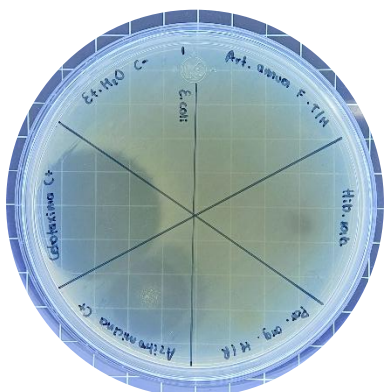


Figura 73. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Escherichia coli* como microorganismo de prueba.

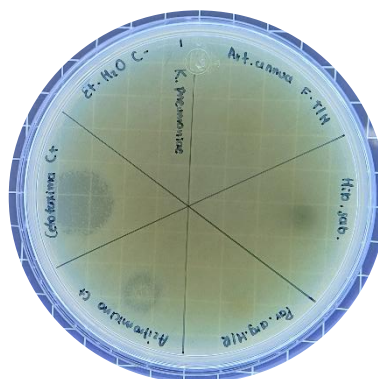


Figura 74. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Klebsiella pneumoniae* como microorganismo de prueba.

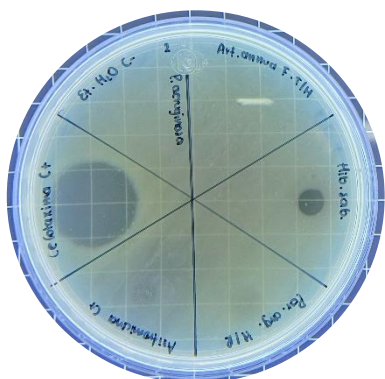


Figura 75. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Pseudomonas aeruginosa* como microorganismo de prueba.

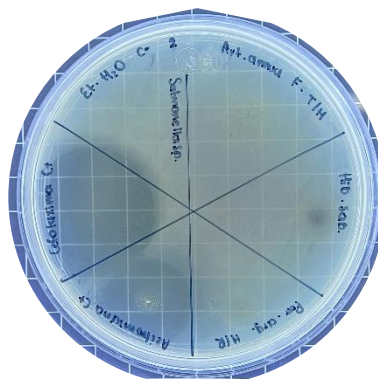


Figura 76. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Salmonella* sp. como microorganismo de prueba.

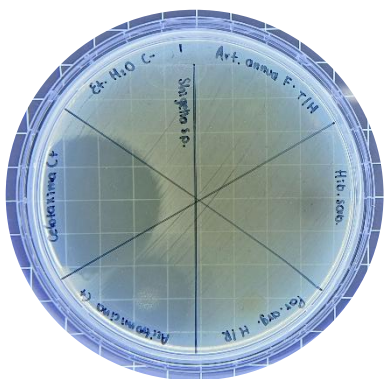


Figura 77. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Shigella* sp. como microorganismo de prueba.

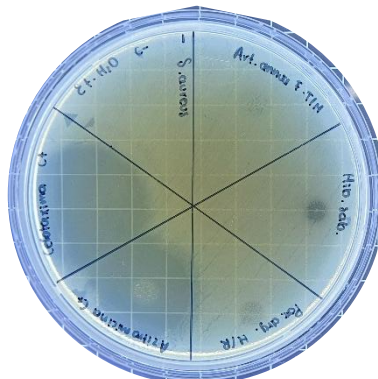


Figura 78. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Staphylococcus aureus* como microorganismo de prueba.

En la tabla 9 se muestran los resultados obtenidos mediante el método de difusión en agar con la técnica de Kirby-Bauer modificado. El criterio para determinar la sensibilidad de las bacterias a los fitoextractos fue a partir del diámetro de la gota de los fitoextractos y antibióticos, >4.0 mm se clasificó como bacteria sensible y <4.0 mm como bacteria resistente al fitoextracto o antibiótico.

Tabla 9. Resultados de la evaluación antimicrobiana mediante el método de difusión agar con la técnica de Kirby-Bauer modificado. Nota: R: Resistente, S: Sensible.

Bacteria		Extractos			Controles		
		<i>A. annua</i>	<i>H. sabdariffa</i>	<i>P. argentea</i>	Azitromicina C+	Cefotaxima C+	Etanol -H ₂ O destilada, C-
<i>E. coli</i>	1	R	S	S	S	S	R
	2	R	S	S	S	S	R
	3	R	S	S	S	S	R
<i>K. pneumoniae</i>	1	R	S	S	S	S	R
	2	R	S	S	S	S	R
	3	R	S	S	S	S	R
<i>P. aeruginosa</i>	1	R	S	R	R	S	R
	2	R	S	R	R	S	R
	3	R	S	R	R	S	R
<i>Salmonella</i> sp.	1	S	S	R	S	S	R
	2	S	S	R	S	S	R
	3	S	S	R	S	S	R
<i>Shigella</i> sp.	1	R	R	R	S	S	R
	2	R	R	R	S	S	R
	3	R	R	R	S	S	R
<i>S. aureus</i>	1	R	S	S	S	S	R
	2	R	S	S	S	S	R
	3	R	S	S	S	S	R

Análisis estadísticos

En este estudio se determinó la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk y homogeneidad de varianzas con la prueba de Levene para llevar a cabo un análisis de varianza (ANOVA).

Para el análisis estadístico, ANOVA seguido de la prueba de Tukey, se consideró únicamente el antibiótico que presentó el menor halo de inhibición como control positivo de referencia. Esta elección se fundamentó en que el empleo de un antibiótico con una actividad inhibitoria superior podría generar diferencias extremas, afectando la homogeneidad de varianzas y

reduciendo la sensibilidad del análisis para detectar las variaciones entre los extractos evaluados. El uso de un control positivo con una actividad inhibitoria más cercana a la de los fitoextractos permitió establecer comparaciones más homogéneas.

En la tabla 10, se muestran los resultados en promedios de halos de inhibición obtenidos de la evaluación de la actividad antibacteriana mediante el método de difusión en agar por medio de gota de los extractos hidroetanólicos de *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. contra *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *Staphylococcus aureus*. El control negativo demostró no presentar actividad inhibitoria frente a los microorganismos de estudio. Sin embargo, cuando los resultados se compararon con el control positivo (azitromicina para *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* sp., *Shigella* sp. y *S. aureus*. y cefotaxima para *P. aeruginosa*), los extractos hidroetanólicos mostraron una capacidad estadísticamente inferior al control positivo.

Tabla 10. Promedios en mm de la evaluación de actividad antimicrobiana de fitoextractos hidroetanólicos mediante el método de difusión en agar con la técnica de Kirby-Bauer modificado. NA: Sin actividad (0 mm).

Promedio de Zona de Inhibición (mm)						
Bacterias	<i>A. annua</i> F-T/H	<i>H. sabdariffa</i> . F	<i>P. argentea</i> . H/R	Azitromicina	Cefotaxima	Valor p
<i>Escherichia coli</i>	NA	6.53±2.40 ^A	7.36±2.03 ^A	18.53±0.52 ^B	32.40±1.75	0.0003462
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NA	5.66±1.75 ^A	6.04±1.25 ^A	8.33±0.39 ^A	15.98±0.82	0.0821665
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NA	5.59±0.39 ^A	NA	NA	19.23±1.76 ^B	0.0001955
<i>Salmonella</i> sp.	10.14±0.98 ^A	4.07±0.03 ^B	NA	20.73±0.92 ^C	31.06±0.94	0.0000006
<i>Shigella</i> sp.	NA	NA	NA	21.00±0.14	33.88±0.65	ND
<i>Staphylococcus aureus</i>	NA	5.45±1.10 ^A	6.34±1.19 ^A	22.97±0.54 ^B	28.61±0.67	0.0000009

A. annua F – T/H: *Artemisia annua* L. flor – tallo/hoja.
H. sabdariffa F: *Hibiscus sabdariffa* L. flor.
P. argentea H/R: *Paronychia argentea* Lam. hoja/raíz.
 NA: sin actividad.
 ND: no determinado.
 Nota: Las medias con letras mayúsculas diferentes en superíndice dentro de la misma fila muestran diferencias significativas (p<0.05). Las medias con letras mayúsculas iguales en superíndice dentro de la misma fila significa que no existe diferencia significativa (p>0.05).

La prueba de ANOVA de un factor mostró diferencias estadísticamente significativas entre el promedio de los halos de inhibición, excepto en el análisis estadístico de la bacteria *K. pneumoniae*, las medias entre los grupos de estudio resultaron iguales, es decir, tanto el control positivo como los extractos evaluados mostraron un efecto inhibitorio similar frente a esa bacteria.

A continuación, se presentan los análisis de varianza y prueba de Tukey de cada bacteria, excepto de *Shigella* sp, que no demostró actividad inhibitoria. Todos los análisis estadísticos presentaron una correlación lineal de 0.85 a 1.0 (UnADM, 2019), con un nivel de significación del 95% y con un valor de $\alpha=0.05$.

En el análisis mediante la prueba de comparaciones múltiples de Tukey los valores obtenidos para la comparación de los extractos – antibiótico (azitromicina) mostraron una diferencia estadísticamente significativa frente a *Escherichia coli* (figura 79). Los extractos de *H. sabdariffa* L. y *P. argentea* Lam. presentaron una actividad inhibitoria similar entre sí, sin embargo, ambos difirieron de manera significativa respecto al antibiótico.

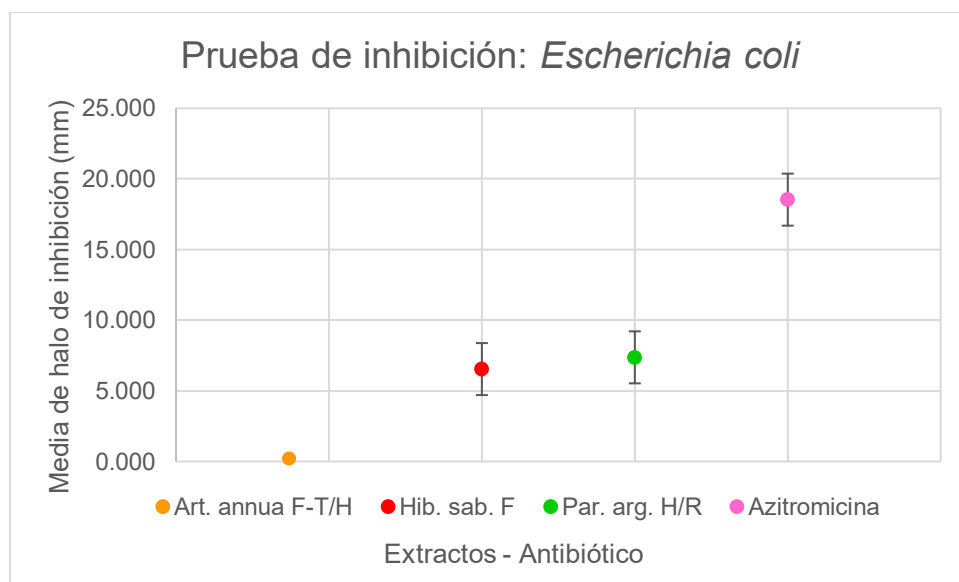


Figura 79. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a *Escherichia coli*, con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.

Los valores obtenidos para la comparación de los extractos – antibiótico (azitromicina) con un valor de nivel de confianza del 95%, evidenció que no hay una diferencia significativa frente a *Klebsiella pneumoniae* (figura 80). Los extractos *H. sabdariffa* L. y *P. argentea* Lam.

y el antibiótico mostraron una actividad inhibitoria similar, lo cual quiere decir que los fitoextractos podrían actuar como el antibiótico azitromicina.

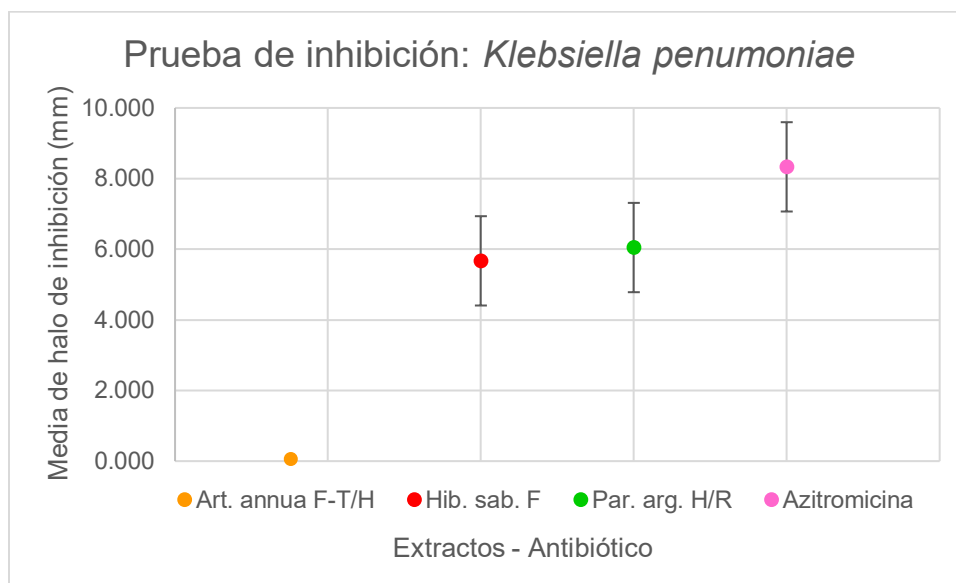


Figura 80. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a *Klebsiella pneumoniae*, con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.

Los valores obtenidos para la comparación de extractos – antibiótico (cefotaxima) con un valor de nivel de confianza del 95%, expresaron una diferencia significativa frente a *Pseudomonas aeruginosa* (figura 81). El extracto de *H. sabdariffa* L. difirió de forma significativa respecto al antibiótico.

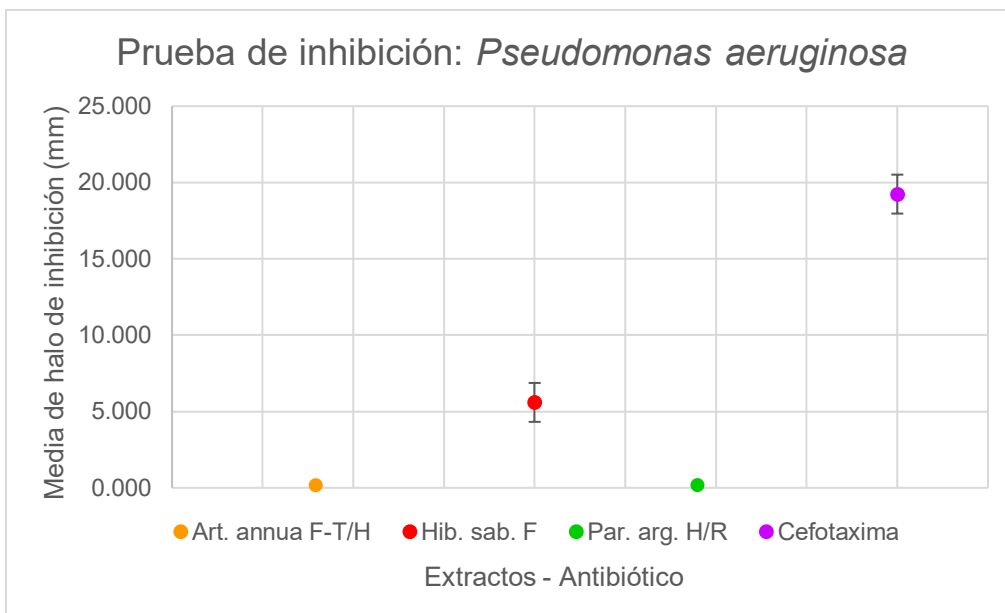


Figura 81. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a *Pseudomonas aeruginosa*, con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.

En el análisis mediante la prueba de Tukey los valores obtenidos para la comparación de los extractos – antibiótico (azitromicina) expresaron una diferencia estadísticamente significativa frente a *Salmonella* sp., (figura 82). Tanto el extracto de *A. annua* L. como el de *H. sabdariffa* L. difieren de manera significativa en su actividad inhibitoria respecto al antibiótico.

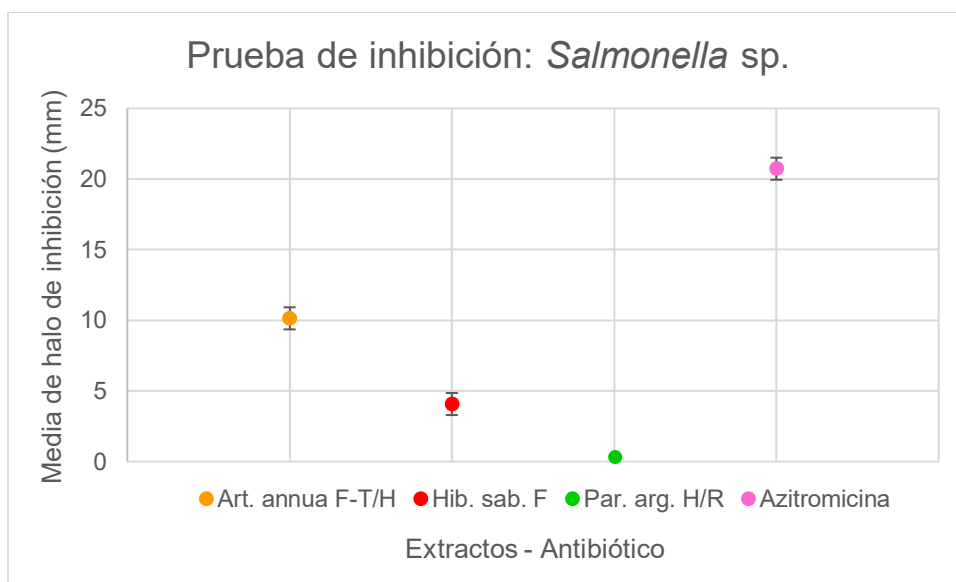


Figura 82. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a *Salmonella* sp., con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.

Los valores obtenidos para la comparación de los extractos – antibiótico (azitromicina) con un valor de nivel de confianza del 95%, evidenciaron una diferencia significativa frente a *Staphylococcus aureus* (figura 83). Los extractos de *H. sabdariffa* L. y *P. argentea* Lam. presentaron una actividad inhibitoria similar entre sí, no obstante, ambos difirieron de manera significativa respecto al antibiótico.

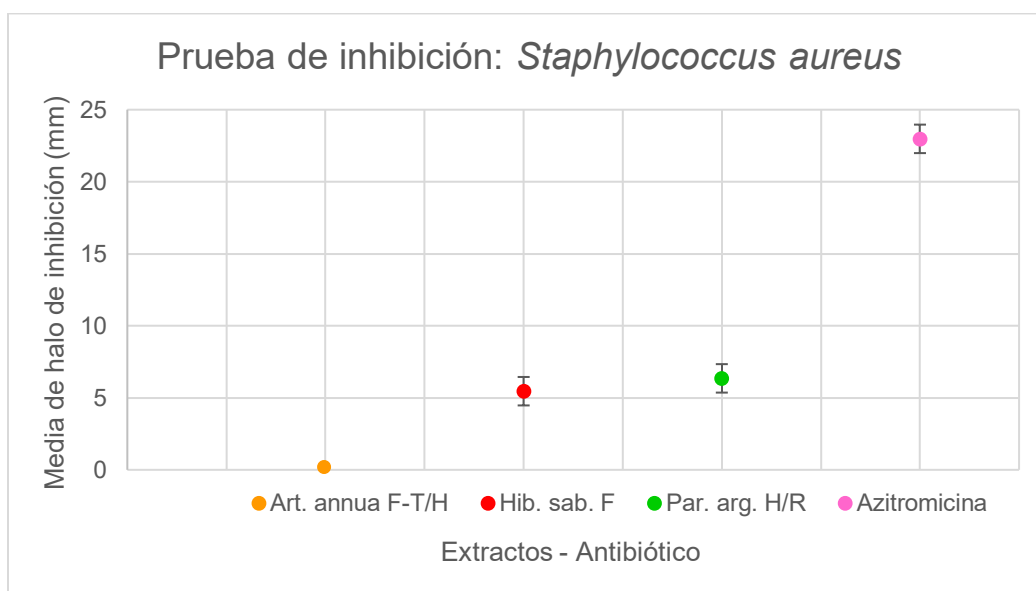


Figura 83. Gráfica de intervalos fitoextractos - antibiótico frente a *Staphylococcus aureus*, con un valor de nivel de confianza del 95%. La desviación estándar agrupada se utilizó para calcular los intervalos.

A pesar de que ciertos extractos no evidenciaron efecto inhibitorio en la prueba de actividad antimicrobiana por el método de difusión en gota, se continuó con el ensayo de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) sólo para los extractos que sí demostraron actividad inhibitoria.

Método de dilución en caldo: microdilución en placa

En las figuras 84 – 88, se observa la evaluación de la susceptibilidad antibacteriana mediante la microdilución en placa para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos a los que fueron sensibles las cepas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp. y *Staphylococcus aureus* en el método de difusión en agar. Cada prueba se realizó por triplicado.

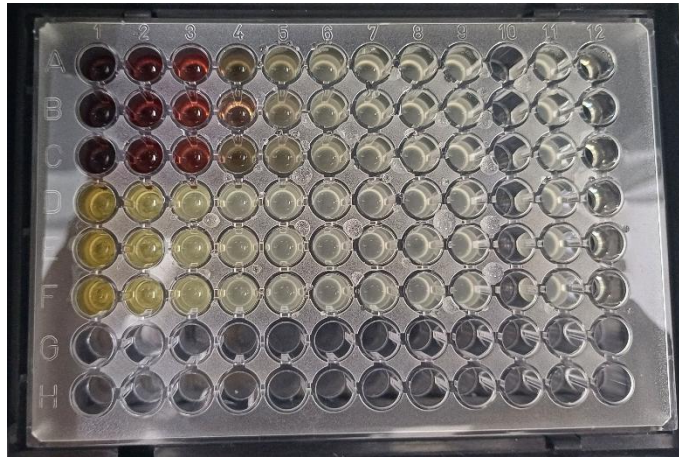


Figura 84. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. frente a *Escherichia coli*.

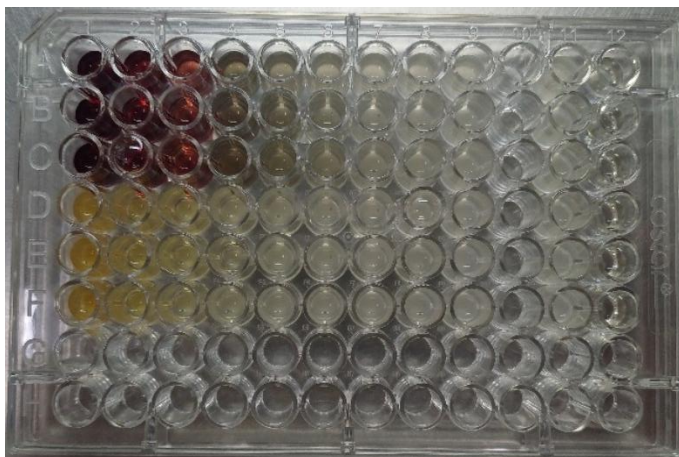


Figura 85. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. frente a *Klebsiella pneumoniae*.

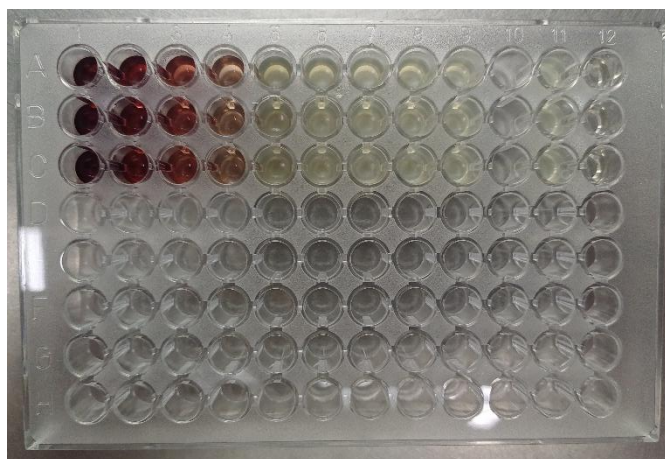


Figura 86. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de *Hibiscus sabdariffa* L. frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

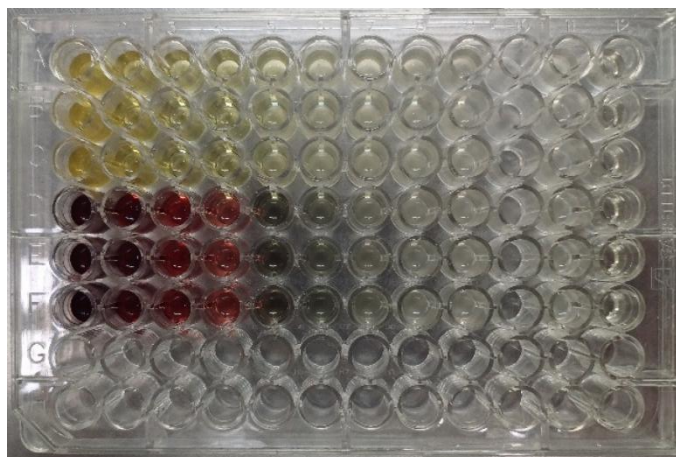


Figura 87. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de *Artemisia annua* L. y *Hibiscus sabdariffa* L., frente a *Salmonella* sp.

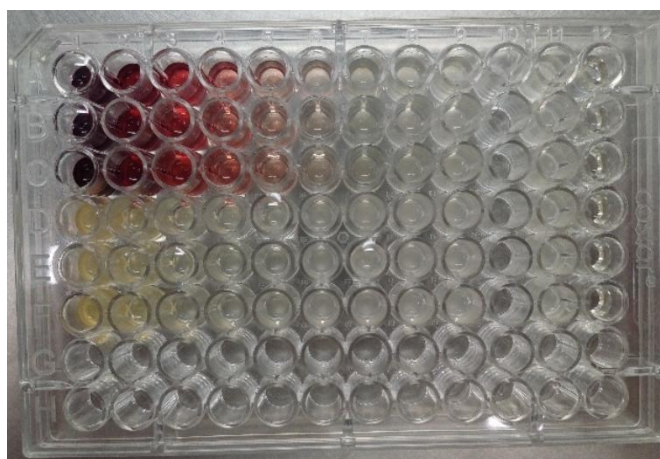


Figura 88. Microdilución en placa para la determinación de CMI de los extractos hidroetanólicos de *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. frente a *Staphylococcus aureus*.

Debido a la interferencia de color de los fitoextractos, para conocer la CMI se llevó a cabo la metodología de goteo por sellado en placa masivo, haciendo uso del replicador.

Goteo por Sellado en Placa Masivo

En las figuras 89 – 93, se pueden visualizar los resultados de esta metodología para conocer la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos frente a las bacterias sensibles. Consultar la figura 71 para interpretar la CMI. Cada ensayo se realizó por triplicado, las primeras tres filas corresponden a un extracto y las últimas tres filas corresponden al segundo extracto evaluado.

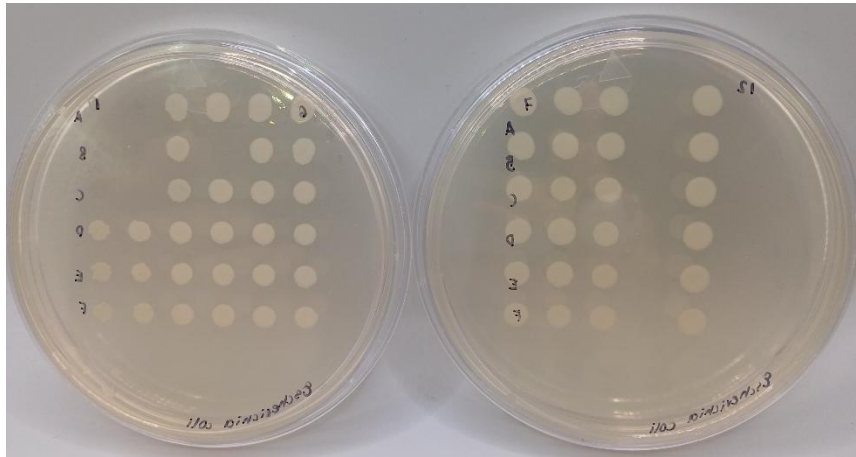


Figura 89. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de *Hibiscus sabdariffa* L. (CMI= 256 mg/mL) y *Paronychia argentea* Lam. (CMI= > 512 mg/mL) frente a *Escherichia coli*.

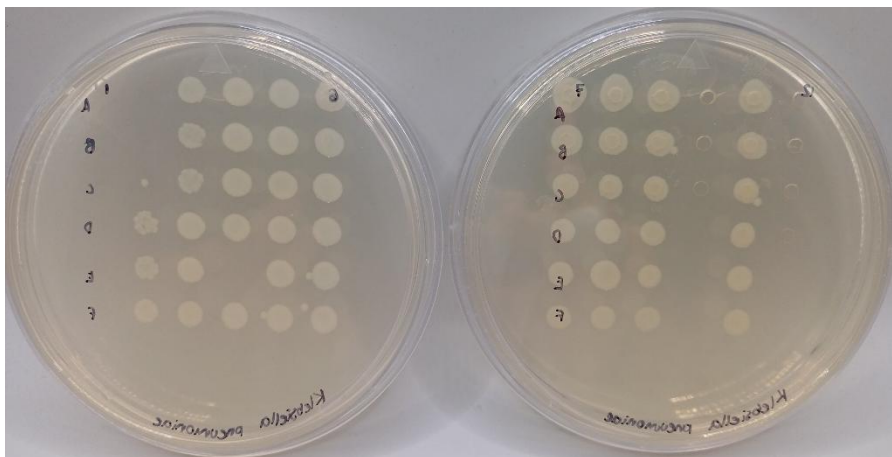


Figura 90. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de *Hibiscus sabdariffa* L. (CMI= 256 mg/mL) y *Paronychia argentea* Lam. (CMI= 512 mg/mL) frente a *Klebsiella pneumoniae*.

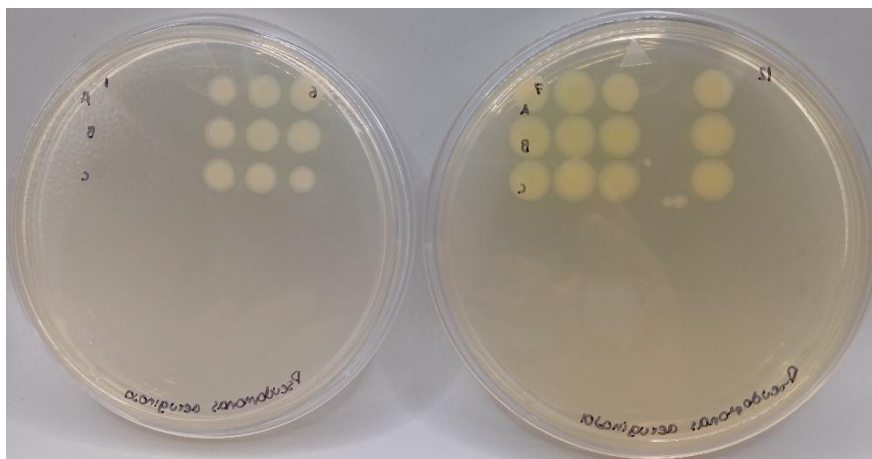


Figura 91. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de *Hibiscus sabdariffa* L. (CMI= 128 mg/mL) frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

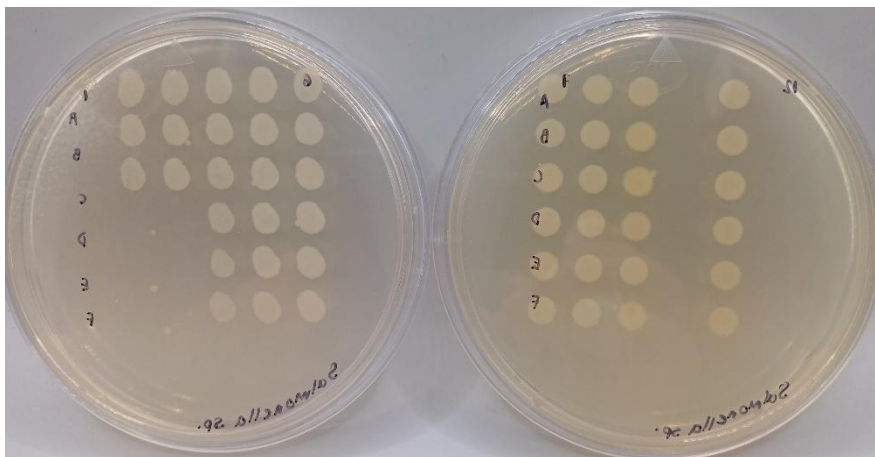


Figura 92. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de *Artemisia annua* L. (CMI= 512 mg/mL) y *Hibiscus sabdariffa* L. (CMI= 128 mg/mL) frente a *Salmonella* sp.

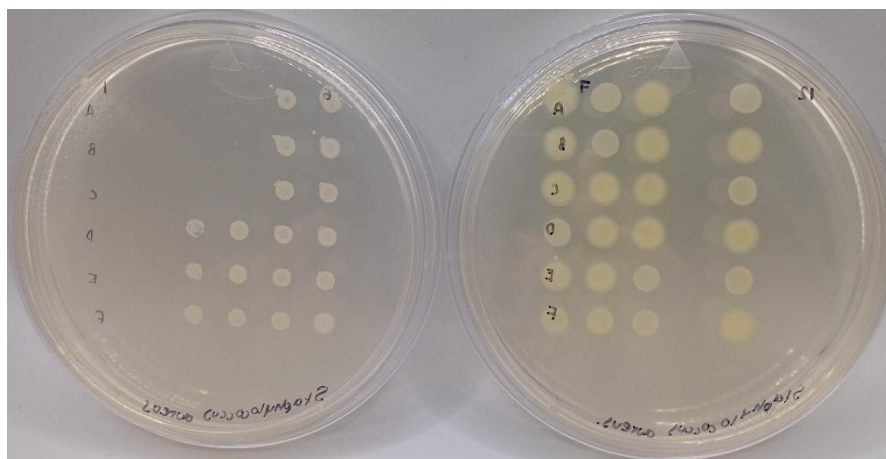


Figura 93. Técnica de sellado en placa para la determinación de CMI de *Hibiscus sabdariffa* L. (CMI= 64 mg/mL) y *Paronychia argentea* Lam. (CMI= 256 mg/mL) frente a *Staphylococcus aureus*.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los fitoextractos evaluados con las cepas sensibles se puede observar en la tabla 11, cada análisis se realizó por triplicado. Las CMI de los tres extractos variaron de acuerdo con el microorganismo estudiado. El extracto hidroetanólico de *A. annua* L. F - T/H presentó la única concentración para inhibir el crecimiento de *Salmonella* sp. (512 mg/mL). El extracto hidroetanólico de *Hib. sabdariffa* L. F presentó la menor concentración para inhibir el crecimiento de *S. aureus* (64 mg/mL). El extracto hidroetanólico de *Par. argentea* Lam. H/R presentó la menor concentración para inhibir el crecimiento de *S. aureus* (256 mg/mL).

Tabla 11. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en mg/mL de los extractos frente a las bacterias sensibles a los extractos del método de difusión. ND: no determinado.

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) en mg/mL			
Bacteria	Extractos Hidroetanólicos		
	<i>A. annua</i> F - T/H	<i>H. sabdariffa</i> F	<i>P. argentea</i> H/R
<i>Escherichia coli</i>	ND	256	> 512
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ND	256	512
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ND	128	ND
<i>Salmonella</i> sp.	512	128	ND
<i>Staphylococcus aureus</i>	ND	64	256

A. annua F – T/H: *Artemisia annua* L. flor – tallo/hoja.
H. sabdariffa F: *Hibiscus sabdariffa* L. flor.
P. argentea H/R: *Paronychia argentea* Lam. hoja/raíz.
 ND: no determinado.

Las bacterias, tanto grampositivas como gramnegativas, constituyen uno de los principales agentes etiológicos responsables de múltiples infecciones humanas. La creciente resistencia a los antimicrobianos convencionales ha limitado las opciones de tratamiento. Por ende, se ha probado el potencial antimicrobiano de los extractos de las plantas de *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. A la luz de los resultados obtenidos, los extractos de las plantas y fitocompuestos estudiados pueden ser una alternativa segura para el tratamiento de infecciones bacterianas.

Las experiencias de estudios previos analizaron las propiedades antimicrobianas de los extractos de *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. usando un disolvente de diferente polaridad, pero no existen antecedentes que hayan analizado la actividad antimicrobiana de estos extractos obtenidos de un extracto hidroetanólico (50:50 v/v) con la correspondiente determinación de la CMI frente a microorganismos de importancia clínica.

Los resultados de la evaluación antimicrobiana *in vitro* de los fitoextractos demostraron que los extractos hidroetanólicos de *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. inhibieron mejor el crecimiento de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*. Sin embargo, el extracto de *Hib. sabdariffa* L. fue mejor estadísticamente para inhibir más bacterias y a menor concentración (tabla 10 y 11). Aunque algunos extractos no mostraron actividad muy visible contra los microorganismos utilizando el método de difusión en agar (en las figuras 73 – 78), sí presentaron actividad antimicrobiana al analizarse mediante el método de microdilución.

Esta diferencia podría estar relacionada con la manera en que los metabolitos de los extractos se difundieron en el agar, utilizando el método de difusión, la cual podría no ser tan homogénea como por el método de microdilución donde los metabolitos se mezclan en un medio acuoso homogéneo, favoreciendo mejor la interacción de los fitocompuestos con las bacterias de estudio.

El extracto de *A. annua* L. inhibió el desarrollo de sólo una bacteria gramnegativa, *Salmonella* sp. a 512 mg/mL., mientras que en las otras bacterias gramnegativas y en la bacteria grampositiva no demostró efecto inhibitorio.

La resistencia de algunas cepas gramnegativas (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Shigella* sp. y *P. aeruginosa*) y *S. aureus* a los fitocompuestos de la planta de *A. annua* se atribuye a su capacidad de presentar resistencia a múltiples fármacos debido a la presencia de bombas de multieflujo activas. Estas bombas constituyen un importante mecanismo de defensa bacteriano frente a compuestos antimicrobianos, ya que expulsan activamente a las sustancias inhibitoras del interior celular, actúan inhibiendo la función, expresión y ensamblaje de las bombas de eflujo (Duffey *et al.*, 2024). La susceptibilidad de la bacteria gramnegativa, *Salmonella* sp., a los compuestos fitoquímicos derivados de *A. annua* fue causada posiblemente por la inhibición de bombas de eflujo en las bacterias.

Los aceites esenciales de *A. annua* como la cetona de Artemisia, el cariofileno y β -selineno son eficaces contra bacterias gramnegativas debido a que pueden actuar en sinergia. Las propiedades antibacterianas se pueden atribuir a su naturaleza lipofílica, que les permite infiltrarse eficazmente en las células bacterianas. La cadena alifática del aceite esencial se acumula en las membranas citoplasmáticas, lo que conlleva a una permeabilidad deficiente de la membrana y finalmente a la muerte rápida de los microorganismos (Chebbac *et al.*, 2023).

El extracto de *H. sabdariffa* L. inhibió el desarrollo de *E. coli* y *K. pneumoniae* a la misma concentración (256 mg/mL), *P. aeruginosa* y *Salmonella* sp. a la misma concentración (128 mg/mL), y *S. aureus* a una menor concentración de 64 mg/mL.

La actividad antibacteriana del extracto de *H. sabdariffa* se atribuyó a la presencia de antocianinas, ácido fenólicos y flavonoides, estos pueden formar complejos con las paredes

celulares bacterianas, mejorando la penetración del extracto. El mecanismo de acción puede incluir varios pasos metabólicos, como la inhibición del movimiento de las proteínas transportadoras de electrones, proceso de fosforilación y reacciones enzimáticas subordinadas que terminan en una mayor permeabilidad de la membrana y la liberación de los componentes de la célula bacteriana (Sulieman, 2022).

El extracto de *P. argentea* Lam. inhibió el desarrollo de *E. coli* a una concentración mayor a 512 mg/mL, *K. pneumoniae* a 512 mg/ mL y a *S. aureus* a una concentración menor de 256 mg/mL.

La inhibición del desarrollo de las bacterias estudiadas con el extracto de *P. argentea* Lam., se le confiere a la presencia de saponinas, polifenoles y otros fitocompuestos, ya que las primeras son eficaces contra bacterias grampositivas (Veeraraghavan *et al.*, 2020), se ha especulado que su mecanismo de acción está relacionado con el sistema de membrana celular bacteriana. Estudios previos han reportado que la actividad superficial de las saponinas está relacionada con la actividad antibacteriana, estas se unen a los esteroides superficiales en las membranas celulares causando daño severo a las bacterias mediante la degradación de la pared celular seguida de la disrupción de la membrana citoplasmática y las proteínas de membrana, resultando una pérdida de constituyentes intracelulares, conduciendo a la muerte celular (Dong *et al.*, 2020).

La resistencia de *Shigella* sp. en los tres extractos evaluados se atribuye a diversos factores, en primer lugar, al ser una bacteria gramnegativa posee una envoltura celular más compleja para la interacción de los fitocompuestos. Las bacterias pueden ser intrínsecamente resistentes debido a la capacidad de resistencia mediante mutaciones y transferencia de genes. Existen varios mecanismos de resistencia como la mala penetración del fitocompuesto en la célula, el eflujo de antibióticos por bombas de eflujo activas o hidrólisis de los compuestos (Appalasamy *et al.*, 2014; Puzari *et al.*, 2018).

La envoltura celular de las bacterias gramnegativas es más compleja que la de las grampositivas ya que, además de tener una membrana interna (citoplasmática), las bacterias gramnegativas también tienen una membrana externa. El compartimento entre las dos membranas, el periplasma, actúa como amortiguador entre el entorno externo y el interno de las bacterias gramnegativas. La permeabilidad de la pared celular en bacterias gramnegativas

y grampositivas presenta diferencias significativas, específicamente en la capacidad de penetración de moléculas grandes (Appalasaamy *et al.*, 2014). Lo anterior podría respaldar los hallazgos de este estudio, siendo una de las razones por las que las bacterias gramnegativas fueron más resistentes a los fitocompuestos. Además, se ha identificado que los alcaloides, flavonoides, polifenoles y diterpenos fenólicos actúan en sinergia con los antibióticos. Muchos de estos fitoquímicos tienen actividad inhibitoria del eflujo contra bombas de eflujo bacterianas grampositivas (Duffey *et al.*, 2024).

Caracterización Fitoquímica mediante Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas (CG/EM)

La concentración relativa de los compuestos químicos encontrados en los respectivos extractos estudiados por el análisis de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM), así la proporción relativa de cada compuesto (% Área) y su actividad biológica reportada en la literatura se muestran detalladamente en las siguientes tablas (tablas 12 – 20). Los resultados mostraron que la expresión de los compuestos químicos fue distinta para cada extracto (etanol, cloroformo y hexano).

A pesar de que la actividad antimicrobiana se evaluó utilizando los extractos hidroetanólicos, es posible suponer que varios de los compuestos presentes en un extracto etanólico también se encuentran en el extracto hidroetanólico, debido a que el etanol es el principal disolvente orgánico en ambos extractos y tanto el agua como el etanol son disolventes con alta polaridad que facilita la extracción de fitocompuestos.

En las figuras 94 - 96, se muestran los cromatogramas obtenidos por CG-EM de los extractos de etanol, cloroformo y hexano de la planta *Artemisia annua* L., por el método de maceración y extracción asistida por ultrasonido.

Los principales componentes del extracto de etanol de *Artemisia annua* L. fueron ácido oleico (20.2 %), oleato de etilo (7.6 %), ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico, 6.19 %), β -sitosterol (6.04 %) y ácido caproico (3.97 %). Algunos compuestos con menor proporción, pero no menos importantes son los precursores de artemisinina, como alcohol de artemisia (1.49 %), ácido artemisínico (1.16 %) y arteannuin B (1.07 %). En la figura 93 se observan los picos de % Área de los 19 componentes que se identificaron en el extracto de etanol con actividades biológicas reportadas (ChemicalBook, 2023; PubChem, 2025).

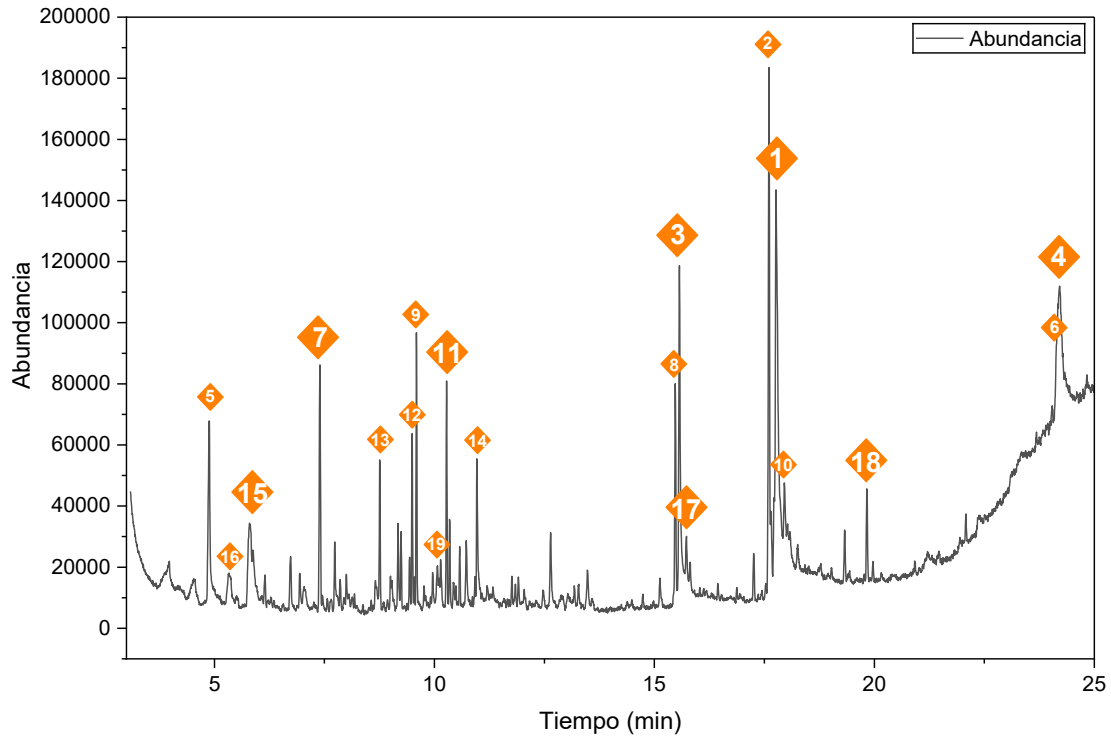
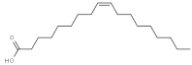

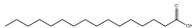
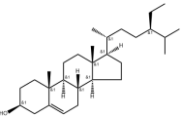
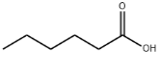
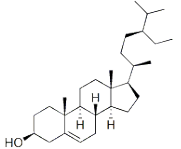
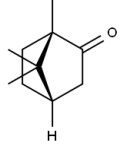


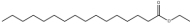
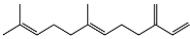
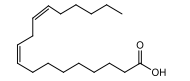
Figura 94. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto etanólico de *Artemisia annua* L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 19 compuestos.

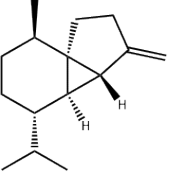
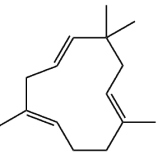
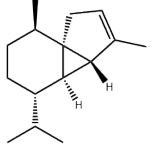
En la tabla 12, se presentan los compuestos químicos obtenidos en el extracto de etanol. Dentro de los 19 compuestos identificados por CG-EM, sin importar la proporción del compuesto, 15 compuestos presentan actividad antimicrobiana, siendo éstos el ácido oleico, ácido palmítico, ácido caproico, alcanfor, palmitato de etilo, ácido linoleico, β -cubebeno, cariofileno, α -cubebene, ácido láurico, alcohol de artemisia, eucaliptol, ácido artemisínico, arteannuin B y norborneol. Estos compuestos posiblemente pudieron actuar en sinergia para lograr inhibir el crecimiento de *Salmonella* sp.

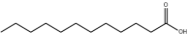
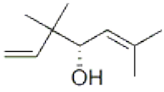
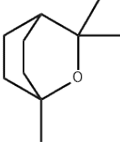
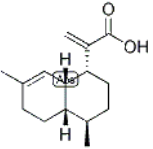
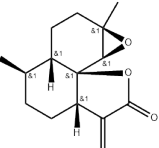
Tabla 12. Compuestos encontrados en el extracto de etanol de la planta de *Artemisia annua* L. mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).

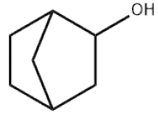
<i>Artemisia annua</i> L. en Etanol				
Compuesto fitoquímico	Tipo de compuesto	Actividad reportada	% Área	Referencia
<p>1</p> <p>Ácido oleico (Ácido (Z)-octadec-9-enoico)</p> 	Ácido graso insaturado	Antioxidante, antiinflamatoria, antitumoral, inmunoestimulante, antiandrogénica, antibacteriana, antifúngica, actúa como lubricante, aglutinante, antiespumante, factor importante en el efecto hipoglucemiante, disolvente farmacéutico	20.2	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
<p>2</p> <p>Oleato de etilo</p> 	Éster de ácido graso	Acaricida, disolvente en productos pesticidas	7.6	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
<p>3</p> <p>Ácido n-hexadecanoico o (ácido palmítico)</p> 	Ácido graso saturado, ácido carboxílico	Lubricante, aglutinantes, agente antiespumante, desinfectante, antioxidante, antiinflamatoria, hipocolesterolémica, antiandrogénica, antibacteriano, antifúngico	6.19	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (Khelfi <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).

4	<p>Beta-sitosterol (sitosterol)</p> 	Fitoesterol	<p>Antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria, angiogénica, quimiopreventiva, inmunomodulador y antilipémico</p>	6.04	<p>(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).</p>
5	<p>Ácido hexanoico (ácido caproico)</p> 	Ácido graso saturado, ácido carboxílico acíclico	<p>Eficaz contra patógenos de plantas bacterianos y fúngicos sin causar fitotoxicidad en los cultivos</p>	3.97	<p>(ChemicalBook, 2023). (Pierre <i>et al.</i>, 2025). (PubChem, 2025).</p>
6	<p>Gamma-sitosterol (clionasterol)</p> 	Fitoesterol	<p>Anticancerígena</p>	3.63	<p>(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).</p>
7	<p>Biciclo[2.2.1]heptan-2-ona, 1,7,7-trimetil-, (1S)- (alcanfor)</p> 	Cetona monoterpénica bicíclica	<p>Antipruriginoso cutáneo, antiinfeccioso y antimicrobiano</p>	3.12	<p>(ChemicalBook, 2023). (Duda <i>et al.</i>, 2024). (PubChem, 2025).</p>

8	<p>Éster etílico del ácido hexadecanoico o (palmitato de etilo)</p> 	Éster de ácido graso	<p>Antiinflamatoria, antimicrobiano, antioxidante, hipocolesterolémico, nematocida, agente aromatizante, lubricante, emoliente en cosméticos</p>	2.72	<p>(ChemicalBook, 2023). (Fuentes <i>et al.</i>, 2024). (Muhammad <i>et al.</i>, 2015). (PubChem, 2025).</p>
9	<p>1,6,10-dodecatrieno, 7,11-dimetil-3-metileno- (E) (Beta-farneseno)</p> 	Sesquiterpénico	Repelente de especies de pulgones de plaga	2.44	<p>(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).</p>
10	<p>Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z)- (ácido linoleico)</p> 	Ácido graso poliinsaturado	<p>Antiinflamatorio, antibacteriano, hidratante, cicatrizante, mejora la eficacia de los fármacos anticancerígenos, previene la hiperlipidemia, reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, trata la deficiencia o desequilibrio dietético, emulsionante, limpiador, emoliente y acondicionador de la piel</p>	2.18	<p>(Casillas <i>et al.</i>, 2021). (ChemicalBook, 2023). (DrugBank, 2025). (PubChem, 2025).</p>

11	<p>1H- Ciclopenta[1, 3]ciclopropa[1,2]benceno, octahidro-7- metil-3- metilen-4-(1- metiletil)-, [3aS- (3a.alfa.,3b.b eta.,4.beta.,7. alfa.,7aS*)]- (Beta- cubebeno)</p> 	Sesquiterpeno tricíclico	Efectos neuroprotectores, propiedades antioxidantes y antibacterianas	2.07	(ChemicalB ook, 2023). (Kaplan & Celikoglu, 2020). (PubChem, 2025). (Rădulescu <i>et al.</i> , 2021).
12	<p>Cariofileno</p> 	Sesquiterpeno	Antiinflamatorio no esteroideo, fragancia, metabolito, atrayente de insectos, antioxidante, antifúngico, antibacteriano y con propiedades citotóxicas	1.69	(ChemicalB ook, 2023). (Dahham <i>et al.</i> , 2015). (PubChem, 2025).
13	<p>Alfa- Cubebene</p> 	Sesquiterpeno tricíclico	Metabolito vegetal, antibacteriano y antifúngico	1.68	(ChemicalB ook, 2023). (Manikanda <i>n et al.</i> , 2021).

					(PubChem, 2025).
14	<p>Ácido dodecanoico (ácido láurico)</p> 	Ácido graso	Propiedades bactericidas, agente antibacteriano, protege contra la enfermedad de Alzheimer, lubricante, aglutinante y antiespumante	1.58	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
15	<p>3,3,6-trimetilhepta-1,5-dien-4-ol (alcohol de artemisia)</p> 	Alcohol	Antioxidante, antibacteriano y antifúngico	1.49	(Bordean <i>et al.</i> , 2023). (Feng <i>et al.</i> , 2020). (PubChem, 2025).
16	<p>Eucaliptol</p> 	Éter cíclico y monoterpenoide	Aromatizante, fragancia, desinfectante, disolvente, tratamiento para rinosinusitis, control de hipersecreción de moco y asma	1.20	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
17	<p>Ácido artemisinínico</p> 	Ácido monocarboxílico	Antipalúdico, antitumoral, antipirética, antibacteriana, alelopática y antiadipogénica	1.16	(Kong <i>et al.</i> , 2013). (PubChem, 2025).
18	<p>Arteannuin B</p> 	Lactona sesquiterpénica	Antiinflamatorias, antivirales (coronavirus), antibacterianas, anticancerígenas,	1.07	(Cayman Chemical Company, 2023).

			proapoptóticas, antipiréticas, antioxidantes e inmunomoduladoras		(ChemicalBook, 2023). (Fuzimoto, A., 2021). (Hongqing <i>et al.</i> , 2024). (Klochkov <i>et al.</i> , 2020). (PubChem, 2025).
19	Biciclo[2.2.1] heptan-2-ol (Norborneol) 	Alcohol fenólico	Antimicrobiano, insecticida	0.95	(ChemicalBook, 2023). (Cymit Química, 2025). (PubChem, 2025). (Smolecule, 2024).

En la figura 95 se puede observar el cromatograma obtenido del extracto de cloroformo de *A. annua* L., donde se encontraron 15 fitocompuestos. Los compuestos más abundantes en este extracto fueron el alcohol de artemisia (6.76 %), ácido oleico (6.52 %), alcanfor (6.35 %), sitosterol (5.63 %) y octacosano (5.3 %). En la tabla 13 se detallan las actividades biológicas reportadas de los compuestos (ChemicalBook, 2023; PubChem, 2025).

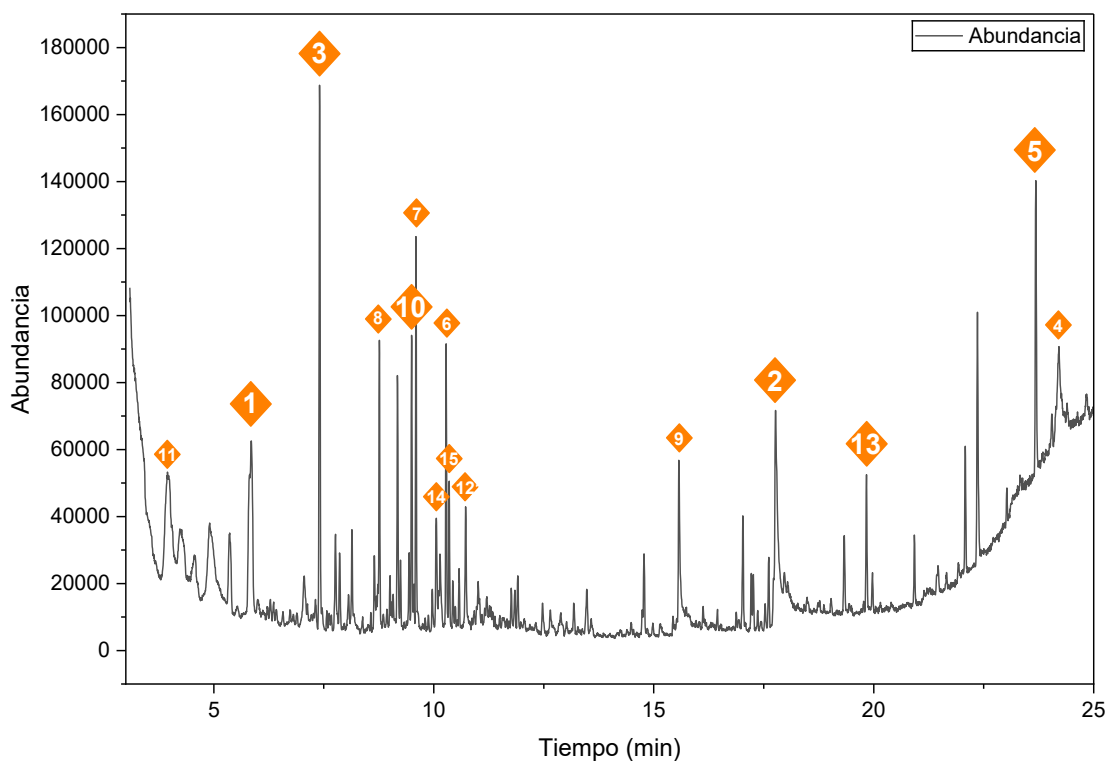
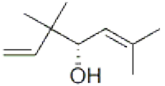
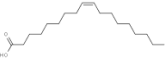
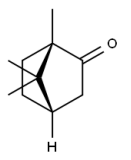
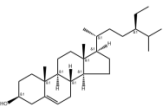



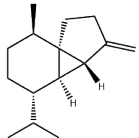
Figura 95. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de cloroformo de *Artemisia annua* L. extraído por el método de maceración/sonicación se identificaron 15 compuestos.

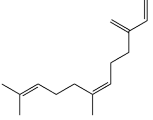
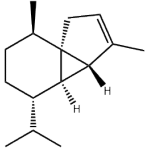
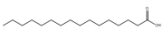
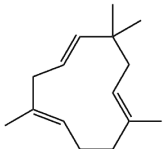
En la tabla 13 se pueden encontrar los fitocompuestos señalados por numeración en el cromatograma correspondiente al extracto de ajeno en cloroformo (figura 95). En este extracto se encontraron 13 compuestos con actividad antimicrobiana.

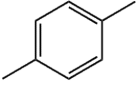
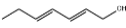
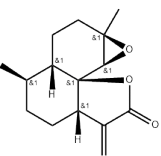
Tabla 13. Compuestos encontrados en el extracto de cloroformo de la planta de *Artemisia annua* L. mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).

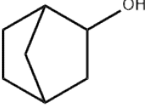
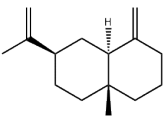
<i>Artemisia annua</i> L. en Cloroformo					
Compuesto fitoquímico	Tipo de compuesto	Actividad reportada	% Área	Referencia	
1	3,3,6-trimetilhepta-1,5-dien-4-ol	Alcohol	Antioxidante, antibacteriano y antifúngico	6.76	(Bordean <i>et al.</i> , 2023) (Feng <i>et al.</i> , 2020).

	(alcohol de artemisia) 				(PubChem, 2025).
2	Ácido oleico (Ácido (Z)-octadec-9-enoico) 	Ácido graso insaturado	Antioxidante, antiinflamatoria, antitumoral, inmunoestimulante, antiandrogénica, antibacteriana, antifúngica, actúa como lubricante, aglutinante, antiespumante, factor importante en el efecto hipoglucemiante, disolvente farmacéutico	6.52	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
3	Biciclo[2.2.1]heptan-2-ona, 1,7,7-trimetil-, (1R)- (alcanfor) 	Cetona monoterpénica bicíclica	Antipruriginoso cutáneo, antiinfeccioso y antimicrobiano	6.35	(ChemicalBook, 2023). (Duda <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
4	Beta-sitosterol (sitosterol) 	Fitoesterol	Antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria, angiogénica, quimiopreventiva,	5.63	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).

			inmunomodulador y antilipémico		
5	<p>Octacosano</p> 	Hidrocarburo alifático saturado	Antibacteriana, larvicida, antitumoral, antioxidante, potencial de cicatrización de heridas	5.3	(Balachandran <i>et al.</i> , 2023). (ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
6	<p>1H-Ciclopenta[1,3]ciclopropa[1,2]benceno, octahidro-7-metil-3-metilen-4-(1-metiletil)-, [3aS-(3a.alfa.,3b.beta.,4.beta.,7.alfa.,7aS*)]- (Beta-cubebeno)</p> 	Sesquiterpeno tricíclico	Efectos neuroprotectores, propiedades antioxidantes y antibacterianas	4.43	(ChemicalBook, 2023). (Kaplan & Celikoglu, 2020). (PubChem, 2025). (Rădulescu <i>et al.</i> , 2021).
7	1,6,10-dodecatrien	Sesquiterpeno	Feromona de alarma con actividades antivirales,	3.84	(ChemicalBook, 2023).

	<p>o, 7,11-dimetil-3-metileno-, (Z) (beta-farneseno)</p> 		antibacterianas y antifúngicos		(PubChem, 2025).
8	<p>Alfa-Cubebene</p> 	Sesquiterpeno tricíclico	Metabolito vegetal, antibacteriano y antifúngico	3.07	(ChemicalBook, 2023). (Manikandan <i>et al.</i> , 2021). (PubChem, 2025).
9	<p>Ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico)</p> 	Ácido graso saturado, ácido carboxílico	Lubricante, aglutinante, agente antiespumante, desinfectante, antioxidante, antiinflamatorio, hipocolesterolémico, antiandrogénico, antibacteriano y antifúngico	3.03	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (Khelfi <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
10	<p>Cariofileno</p> 	Sesquiterpeno	Antiinflamatorio no esteroideo, fragancia, metabolito, atrayente de insectos, antioxidante, antifúngico,	2.98	(ChemicalBook, 2023). (Dahham <i>et al.</i> , 2015). (PubChem, 2025).

			antibacteriano y propiedades citotóxicas		
11	p-xileno 	Hidrocarburo aromático	Disolvente, materia prima, esterilizante de catgut y en microscopía	2.92	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
12	2,4-Heptadien-1-ol, (E,E)- (2,4-heptadien-1-ol) 	Terpenol, alcohol alifático	Aromatizante, con efectos antimicrobianos, antioxidantes y propiedades antineoplásicas	1.73	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
13	Arteannuin B 	Lactona sesquiterpénica	Antiinflamatorias, antivirales (coronavirus), antibacterianas, anticancerígenas, proapoptóticas, antipiréticas, antioxidantes e inmunomoduladoras	1.6	(Cayman Chemical Company, 2023). (ChemicalBook, 2023). (Fuzimoto, A., 2021). (Hongqing <i>et al.</i> , 2024). (Klochkov <i>et al.</i> , 2020). (PubChem, 2025).
14	Biciclo[2.2.1]heptan-2-ol	Alcohol fenólico	Antimicrobiano, insecticida	1.75	(ChemicalBook, 2023).

	(Norborneol) 				(Cymit Química, 2025). (PubChem, 2025). (Smolecule, 2024).
15	Naftaleno, decahidro-4a-metil-1-metilen-7-(1-metiletenil)-, [4aR-(4a.alfa.,7.alfa.,8a.beta.)] (Beta-selineno) 	Sesquiterpeno	Antioxidante funcional con propiedades antirradicales y antimicrobianas	1.48	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).

En la figura 96 se puede observar el cromatograma obtenido del extracto de hexano de la planta de *A. annua* L., analizado por CG-EM. Se encontraron 8 compuestos con propiedades biológicas reportadas (ChemicalBook, 2023; PubChem, 2025). Los compuestos con mayor abundancia en este extracto fueron pinacol (30.53 %) e isobutiroína (16.21 %), ambos con actividades antibacterianas. En la tabla 14 se detallan las actividades biológicas y su proporción relativa en el extracto analizado.

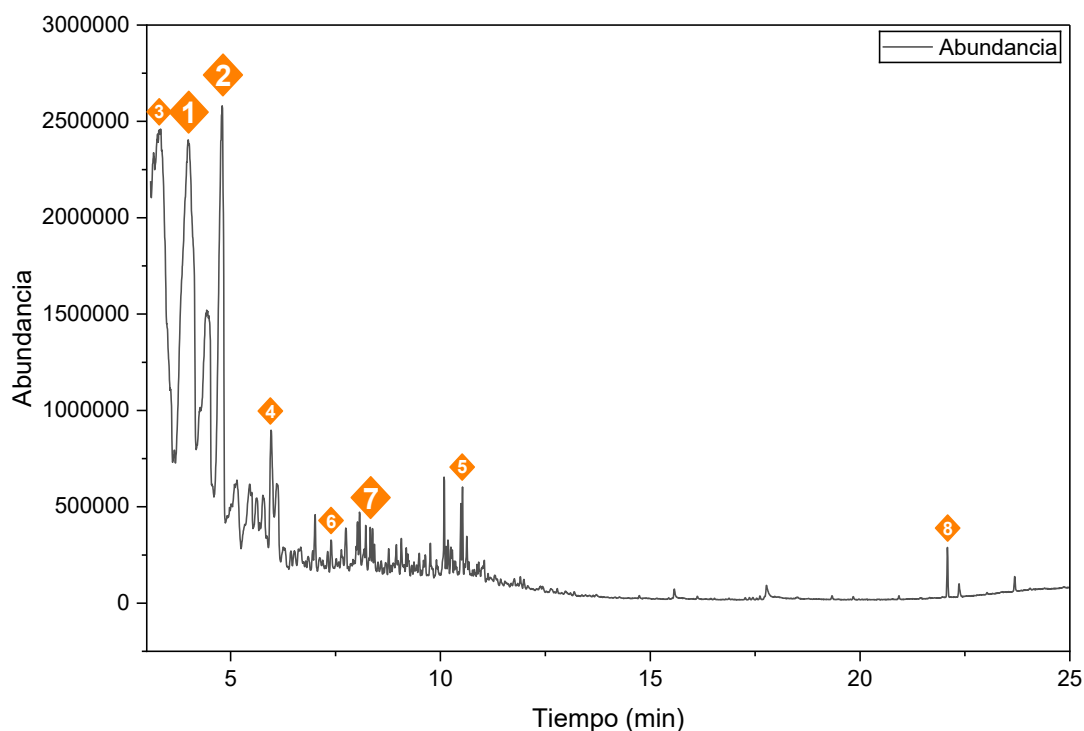
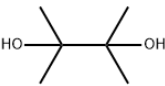
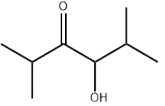
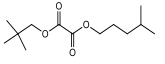
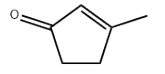
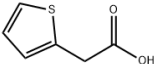


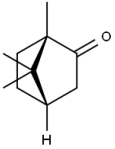
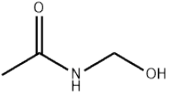
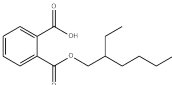
Figura 96. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de hexano de *Artemisia annua* L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 8 compuestos.

En la tabla 14 se pueden encontrar los fitocompuestos señalados por numeración del cromatograma correspondiente al extracto de ajenojo en el disolvente hexano (figura 96). En este extracto se encontraron 7 compuestos con actividad antibacteriana.

Tabla 14. Compuestos encontrados en el extracto de hexano de la planta de *Artemisia annua* L. mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).

<i>Artemisia annua</i> L. en Hexano				
Compuesto fitoquímico	Tipo de compuesto	Actividad reportada	% Área	Referencia
1 2,3-dimetil- 2,3- butanodiol (pinacol) 	Glicol Alcohol graso	Intermedio para compuestos biológicamente activos, como antivirales, antibacterianos,	30.53	(ChemicalBook, 2023).

			antifúngicos y antituberculosos		
2	4-Hidroxi-2,5-dimetil-3-hexanona (isobutirola) 	Ácido carboxílico	Intermediario en la síntesis de derivados de pteridina con potenciales efectos protectores contra la infección por <i>Vibrio cholerae</i>	16.21	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
3	Ácido oxálico, éster isohexil neopentílico 	Éster	Contribuye al crecimiento vegetal	2.35	(Agung <i>et al.</i> , 2022). (PubChem, 2025).
4	3-Metil-2-ciclopenten-1-ona (2-Ciclopenten-1-ona, 3-metil-) 	Cetona cíclica	Aditivo alimentario, aromatizante, intermedio utilizado en síntesis orgánica, productos farmacéuticos y agroquímicos. Efectos antiinflamatorios y antibacterianos	2.21	(ChemicalBook, 2023). (Quin <i>et al.</i> , 2019). (PubChem, 2025). (Smolecule, 2024).
5	Ácido 2-tiofenacético 	Tiofenos, ácido monocarboxílico	Intermedio farmacéutico para la fabricación de cefaloridina y la cefalotina sódica (antibióticos)	1.11	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).

6	Biciclo[2.2.1]heptan-2-ona, 1,7,7-trimetil-, (1S)- (alcanfor) 	Cetona monoterpénica bicíclica	Antipruriginoso cutáneo, antiinfeccioso y antimicrobiano	0.42	(ChemicalBook, 2023). (Duda <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
7	N-(Hidroximetil)acetamida (formicina) 	Aminoalcohol	Antiséptico, desinfectante especial para instrumental quirúrgico	0.41	(ChemicalBook, 2023). (Fillintrip, 2025). (PubChem, 2025).
8	Éster mono(2-etilhexílico) del ácido 1,2-bencenodicarboxílico (Ftalato de mono(2-etilhexilo)) 	Ácido conjugado	Metabolito del ftalato que induce apoptosis en células germinales y de Sertoli, potencial actividad antimicrobiana	0.41	(ChemicalBook, 2023). (Osman <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).

En las figuras 97 – 99, se muestran los cromatogramas obtenidos por CG-EM de los extractos de etanol, cloroformo y hexano de la planta *Hibiscus sabdariffa* L., por el método de maceración y extracción asistida por ultrasonido.

En la figura 97 se puede observar el cromatograma del extracto de jamaica en etanol, donde se identificaron 12 compuestos con propiedades biológicas. Los compuestos con mayor proporción fueron el ácido oleico (20.29 %), oleato de etilo (13.05 %), ácido palmítico (10.67 %), palmitato de etilo (6.80 %), 1,4-diclorobenceno (4.50 %). Los compuestos en menor concentración en el extracto, pero también con actividad biológica importante para la evaluación antibacteriana fueron el fitol (1.73 %), ácido esteárico (1.33 %) y ácido linoleico (1.12 %).

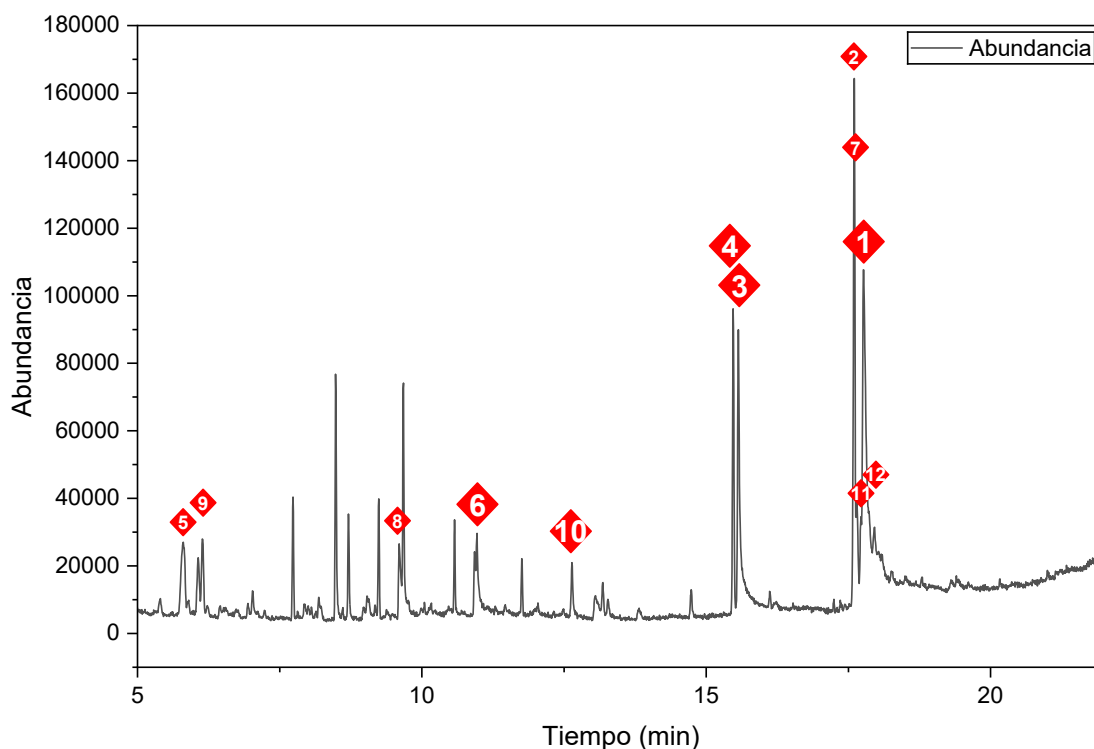
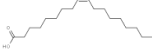

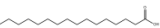

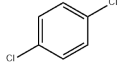




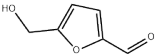
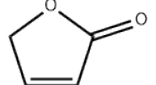
Figura 97. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto etanólico de *Hibiscus sabdariffa* L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 12 compuestos.

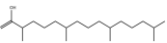
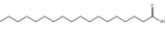
En la tabla 15, se presentan detalladamente las actividades biológicas de los 12 compuestos identificados en el extracto etanólico de *H. sabdariffa* L., así como también la proporción de estos. En este extracto se encontraron 10 compuestos con actividad antibacteriana y antimicrobiana (ácido oleico, ácido palmítico, palmitato de etilo, 1,4-diclorobenceno, ácido láurico, 9-hexadecenoato de etilo, Butenolida, fitol, ácido esteárico y ácido linoleico), estos compuestos pudieron actuar en sinergia para inhibir eficientemente el crecimiento de *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Salmonella sp.*, y *S. aureus*.

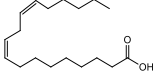
Tabla 15. Compuestos encontrados en el extracto etanólico de la planta de *Hibiscus sabdariffa* L. mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).

<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. en Etanol				
Compuesto fitoquímico	Tipo de compuesto	Actividad reportada	% Área	Referencia
<p>1</p> <p>Ácido oleico (Ácido (Z)-octadec-9-enoico)</p> 	Ácido graso insaturado	Antioxidante, antiinflamatorio, antitumoral, inmunoestimulante, antiandrogénico, antibacteriano, antifúngico, actúa como lubricante, aglutinante, antiespumante, factor importante en el efecto hipoglucemiante, disolvente farmacéutico	20.29	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
<p>2</p> <p>Oleato de etilo</p> 	Éster de ácido graso	Acaricida, disolvente en productos pesticidas	13.05	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
<p>3</p> <p>Ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico)</p> 	Ácido graso saturado, ácido carboxílico	Lubricante, aglutinantes, agente antiespumante, desinfectante, antioxidante, antiinflamatorio, hipocolesterolémico, antiandrogénico, antibacteriano y antifúngico	10.67	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (Khelfi <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).

4	<p>Éster etílico del ácido hexadecanoico (palmitato de etilo)</p> 	Éster de ácido graso	Antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante, hipocolesterolémico, nematocida, agente aromatizante, lubricante, emoliente en cosméticos	6.80	(ChemicalBook, 2023). (Fuentes <i>et al.</i> , 2024). (Muhammad <i>et al.</i> , 2015). (PubChem, 2025).
5	<p>1,4-diclorobenceno</p> 	Compuesto aromático clorado	Insecticida, fumigante para el control de polillas, mohos y hongos, y como desodorante ambiental	4.50	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
6	<p>Ácido dodecanoico o (ácido láurico)</p> 	Ácido graso saturado, ácido carboxílico	Lubricante, aglutinante, antiespumante, bacteriano, se usa en el desarrollo de monolaurina (agente antimicrobiano capaz de combatir bacterias, virus, levaduras)	3.12	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
7	<p>9-Hexadecenoato de etilo (Éster etílico del ácido palmitoleico)</p> 	Éster de ácido graso	Eficaz contra la pancreatitis y efecto antimicrobiano	2.62	(ChemicalBook, 2023). (Huang <i>et al.</i> , 2010). (PubChem, 2025).

8	<p>5-hidroximetil -2-furaldehído</p> <p>(2-Furancarboxaldehído, 5-(hidroximetil); 5-hidroximetil furfural; 5-HMF)</p> 	Aldehído alifático acíclico Furano	<p>Indicador de calidad en productos alimenticios, antioxidante, suprime la producción de fenotipos de virulencia controlados por quorum sensing (QS) y la formación de biopelículas en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, se usa en la síntesis de prepolímero y precursor antiviral, 5,5'-oxi(bismetilen)-2-furaldehído (OBMF)</p>	2.44	<p>(ChemicalBook, 2023). (Merck KGaA, 2025). (PubChem, 2025). (Rajkumari <i>et al.</i>, 2019).</p>
9	<p>2(5H)-furanona (Butenolida)</p> 	Compuesto orgánico heterocíclico	<p>Agente aromatizante, depresor del apetito, agente inmunosupresor, analgésico, antiinflamatorio, anticancerígeno, anticonvulsivo, antimicrobiano, antioxidante, antiulceroso y antituberculoso.</p> <p>Inhibe comportamientos mediados por quórum sensing (detección de quórum, QS)</p>	2.05	<p>(ChemicalBook, 2023). (Husain <i>et al.</i>, 2019). (Ponnusamy <i>et al.</i>, 2010). (PubChem, 2025).</p>

10	<p>3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecen-1-ol (Fitol; Fitol (mezcla cis/trans); 2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetrametil; 3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol)</p> 	Alcohol diterpénico acíclico, isoprenoide acíclico	Efecto ansiolítico, citotóxico, moduladores del metabolismo, antioxidante, inductores de autofagia y apoptosis, antinociceptivo, antiinflamatorio, inmunomodulador, antibacteriano, antifúngico, antipalúdico, analgésico, anticarcinógeno	1.73	(ChemicalBook, 2023). (Islam <i>et al.</i> , 2018). (PubChem, 2025).
11	<p>Ácido octadecanoico (ácido esteárico)</p> 	Ácido graso saturado	Antibacteriano, antifúngico, lubricante, aglutinante, antiespumante, coadyuvante farmacéutico	1.33	(Agoramoorth <i>et al.</i> , 2007). (ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
12	<p>Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z)- (ácido linoleico)</p>	Ácido graso poliinsaturado	Antiinflamatorio, antibacteriano, hidratante, cicatrizante, mejora la eficacia de los fármacos	1.12	(Casillas <i>et al.</i> , 2021). (ChemicalBook, 2023).

			<p>anticancerígenos, previene la hiperlipidemia, reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, trata la deficiencia o desequilibrio dietético, emulsionante, limpiador, emoliente y acondicionador de la piel</p>	<p>(DrugBank, 2025). (PubChem, 2025).</p>
--	---	--	--	---

En la figura 98 se puede observar el cromatograma obtenido del extracto de cloroformo de *H. sabdariffa* L., donde se identificaron 14 fitocompuestos. Los compuestos más abundantes en este extracto fueron el estireno (17.51 %), ácido oleico (12.68 %) y ácido palmítico (11.92 %).

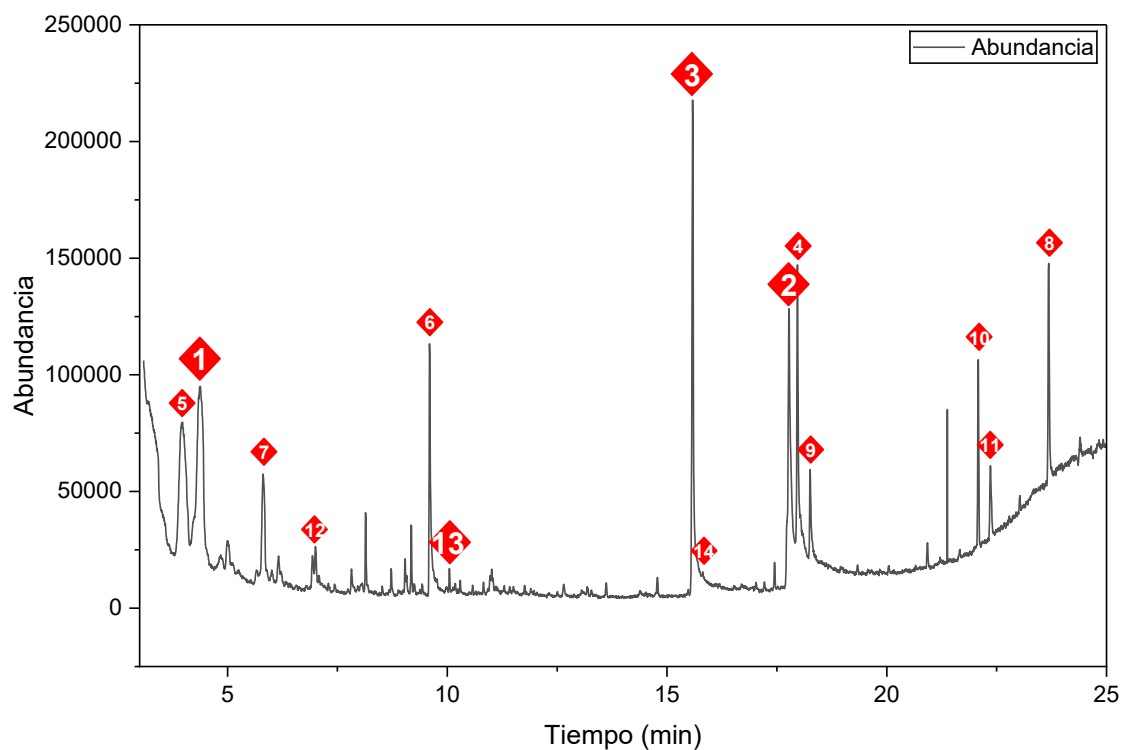
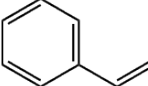
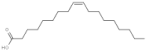
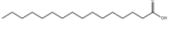
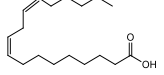


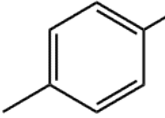
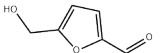
Figura 98. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de cloroformo de *Hibiscus sabdariffa* L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 14 compuestos.

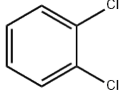

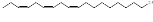
En la tabla 16 se pueden encontrar los fitocompuestos señalados por numeración en el cromatograma correspondiente al extracto de jamaica en cloroformo (figura 98). En este extracto se encontraron 10 compuestos con actividad antimicrobiana.

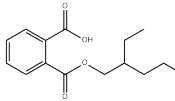

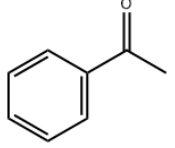
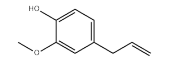
Tabla 16. Compuestos encontrados en el extracto de cloroformo de la planta de *Hibiscus sabdariffa* L., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).

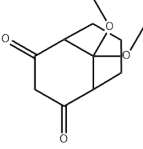
<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. en Cloroformo				
Compuesto fitoquímico	Tipo de compuesto	Actividad reportada	% Área	Referencia
1 	Hidrocarburo aromático	Antitusivo, expectorante y anticolinérgico, agente aromático	17.51	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
2 Ácido oleico	Ácido graso insaturado	Antioxidante,	12.68	(Agada <i>et al.</i> , 2019).

	<p>(Ácido (Z)-octadec-9-enoico)</p> 		<p>antiinflamatoria, antitumoral, immunoestimulante, antiandrogénico, antibacteriano, antifúngico, actúa como lubricante, aglutinante, antiespumante, factor importante en el efecto hipoglucemiante, disolvente farmacéutico</p>		<p>(ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i>, 2024). (PubChem, 2025).</p>
3	<p>Ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico)</p> 	<p>Ácido graso saturado, ácido carboxílico</p>	<p>Lubricante, aglutinantes, agente antiespumante, desinfectante, antioxidante, antiinflamatorio, hipocolesterolémico, antiandrogénico, antibacteriano y antifúngico</p>	11.92	<p>(Agada <i>et al.</i>, 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i>, 2024). (Khelfi <i>et al.</i>, 2024). (PubChem, 2025).</p>
4	<p>Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z)- (ácido linoleico)</p> 	<p>Ácido graso poliinsaturado</p>	<p>Antiinflamatorio, antibacteriano, hidratante, cicatrizante, mejora la eficacia de los fármacos anticancerígenos, previene la hiperlipidemia, reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, trata la</p>	10.91	<p>(Casillas <i>et al.</i>, 2021). (ChemicalBook, 2023). (DrugBank, 2025). (PubChem, 2025).</p>

			deficiencia o desequilibrio dietético, emulsionante, limpiador, emoliente y acondicionador de la piel		
5	p-xileno 	Hidrocarburo aromático	Disolvente, materia prima, esterilizante de catgut y en microscopía	5.45	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
6	5- hidroximetil -2- furaldehído (2- Furancarbo xaldehído, 5- (hidroximetri 1); 5- hidroximetil furfural; 5- HMF) 	Aldehído alifático acíclico Furano	Indicador de calidad en productos alimenticios, antioxidante, suprime la producción de fenotipos de virulencia controlados por quorum sensing (QS) y la formación de biopelículas en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , se usa en la síntesis de prepolímero y precursor antiviral, 5,5'- oxi(bismetilen)-2- furaldehído (OBMF)	5.38	(ChemicalBook, 2023). (Merck KGaA, 2025). (PubChem, 2025). (Rajkumari <i>et al.</i> , 2019).
7	Benceno, 1,2-dicloro (1,2- diclorobenc eno)	Compuesto aromático clorado	Fumigante e insecticida	4.91	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).

					
8	Octacosano 	Hidrocarburo alifático saturado	Antibacteriano, larvicida, antitumoral, antioxidante, potencial de cicatrización de heridas	4.21	(Balachandran <i>et al.</i> , 2023). (ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
9	9,12,15-octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z) (Alcohol linolenílico) 	Alcohol primario	Agente antibacteriano	2.99	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
10	Ácido 1,2-benzenodicarboxílico, mono-(2-etilhexil) éster (Ftalato de mono(2-etilhexilo); Éster mono(2-etilhexílico) del ácido	Ácido conjugado	Metabolito del ftalato que induce apoptosis en células germinales y de Sertoli, potencial actividad antimicrobiana	2.77	(ChemicalBook, 2023). (Osman <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).

	1,2-bencenodica rboxílico) 				
11	Ácido sulfuroso, éster butil heptadecílico 	Compuesto de éster	Antibacteriano	1.67	(ChemicalBook, 2023). (Sathish <i>et al.</i> , 2018).
12	Acetofenona 	Cetona	Citotoxicidad, antimicrobiana, analgésica, antipalúdica, antioxidante, cardioprotectora, neuroprotectora y antidiabética	0.83	(Ahmadpour mir <i>et al.</i> , 2024). (ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
13	Eugenol 	Éter fenólico	Analgésico (tópico), antiséptico, antifúngico, antibacteriano, antiinflamatorio, neuroprotector, antipirética, biocida, insecticida, agente aromatizante y saborizante, tónico, anticancerígeno	0.29	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
14	9,9-dimetoxibiciclo[3.3.1]n	Compuesto bicíclico	Antiinflamatorio y antibacteriano	0.3	(ChemicalBook, 2023).

	ona-2,4- diona			(PubChem, 2025).
				

En la figura 99 se puede visualizar el cromatograma del extracto de hexano de la planta de *H. sabdariffa* L., analizado por CG-EM. Se encontraron 11 compuestos bioactivos, con mayor proporción fueron 4-hidroxi-2,5-dimetilhexan-3-ona (isobutiroína, 23.65 %) y 1-Butanol, 3-metoxi (10.92 %), estos compuestos son intermediarios de productos farmacéuticos.

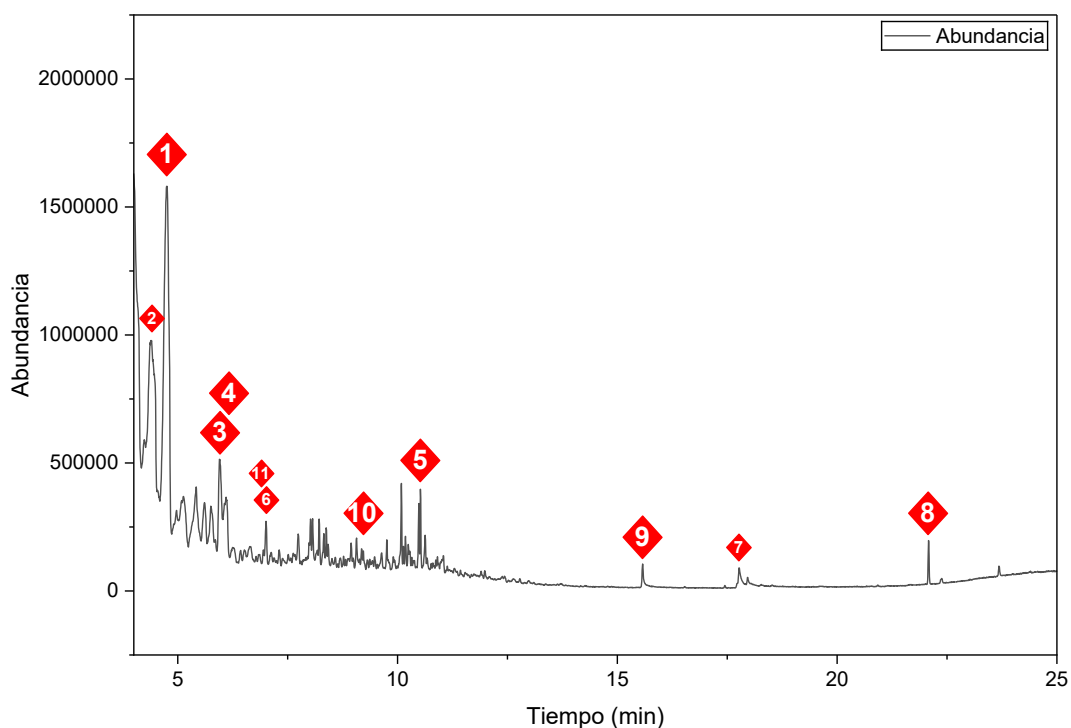
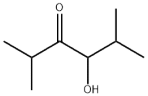
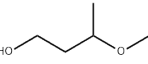
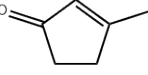
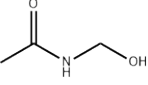
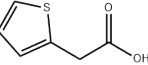

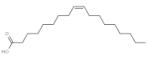


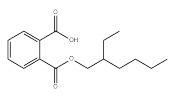
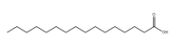
Figura 99. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de hexano de *Hibiscus sabdariffa* L. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 11 compuestos.

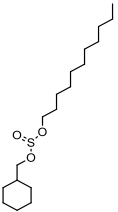

En la tabla 17, se pueden encontrar los fitocompuestos señalados por numeración en el cromatograma correspondiente al extracto de jamaica en el disolvente hexano (figura 99). En este extracto se encontraron 10 compuestos con actividad antimicrobiana.

Tabla 17. Compuestos encontrados en el extracto de hexano de la planta de *Hibiscus sabdariffa* L., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).

<i>Hibiscus sabdariffa</i> L. en Hexano				
Compuesto fitoquímico	Tipo de compuesto	Actividad reportada	% Área	Referencia
<p>1</p> <p>4-hidroxi-2,5-dimetilhexan-3-ona (Isobutirolona, 4-Hidroxi-2,5-dimetil-3-hexanona)</p> 	Cetona	Intermediario en la síntesis de derivados de pteridina con potenciales efectos protectores contra la infección por <i>Vibrio cholerae</i>	23.65	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
<p>2</p> <p>1-Butanol, 3-metoxi</p> 	Alcohol primario	Intermedio para plastificantes, herbicidas, disolvente para productos farmacéuticos	10.92	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
<p>3</p> <p>3-Metil-2-ciclopenten-1-ona (2-Ciclopenten-1-ona, 3-metil-)</p> 	Cetona cíclica	Aditivo alimentario, aromatizante, intermedio utilizado en síntesis orgánica, productos farmacéuticos y agroquímicos. Efectos antiinflamatorios y antibacterianos	4.19	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025). (Quin <i>et al.</i> , 2019). (Smolecule, 2024).

4	<p>N-hidroximetil acetamida (formicina)</p> 	Aminoalcohol	Antiséptico, desinfectante especial para instrumental quirúrgico	1.87	(ChemicalBook, 2023). (Fillintrip, 2025). (PubChem, 2025).
5	<p>Ácido 2-tiofenacético</p> 	Tiofenos, ácido monocarboxílico	Intermediario farmacéutico para la fabricación de cefaloridina y la cefalotina sódica (antibióticos)	1.79	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
6	<p>Tridecano</p> 	Hidrocarburo (alcano)	Componente de fragancia, intermedio químico y disolvente (tintas y desengrasantes), antioxidante y antimicrobiano	0.95	(More <i>et al.</i> , 2022). (PubChem, 2025).
7	<p>Ácido oleico (Ácido (Z)-octadec-9-enoico)</p> 	Ácido graso insaturado	Antioxidante, antiinflamatorio, antitumoral, inmunoestimulante, antiandrogénico, antibacteriano, antifúngico, actúa como lubricante, aglutinante, antiespumante, factor importante en el efecto hipoglucemiante, disolvente farmacéutico	0.72	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).

8	<p>Ácido 1,2-bencenodica rboxílico, mono-(2-etilhexil) éster</p> <p>(Ftalato de mono(2-etilhexilo); Éster mono(2-etilhexílico) del ácido 1,2-bencenodica rboxílico)</p> 	Ácido conjugado	Metabolito del ftalato que induce apoptosis en células germinales y de Sertoli, potencial actividad antimicrobiana	0.64	(ChemicalBook, 2023). (Osman <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
9	<p>Ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico)</p> 	Ácido graso saturado, ácido carboxílico	Lubricante, aglutinantes, agente antiespumante, desinfectante, antioxidante, antiinflamatorio, hipocolesterolémico, antiandrogénico, antibacteriano y antifúngico	0.51	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (Khelfi <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
10	Ácido sulfuroso,	Compuesto de éster	Antioxidante y antifúngico	0.34	(Nyaberi <i>et al.</i> , 2017).

	ciclohexilm etil undecil éster 				(PubChem, 2025).
11	1- clorohexade cano 	Cloruro de alquilo	Disolvente, tensioactivo, producto farmacéutico y efecto antibacteriano	0.26	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).

En las figuras 100 - 102, se muestran los cromatogramas obtenidos por CG-EM de los extractos de etanol, cloroformo y hexano de la planta *Paronychia argentea* Lam., por el método de maceración y extracción asistida por ultrasonido.

Los compuestos con mayor abundancia en el extracto etanólico fueron ácido oleico (11.77 %), oleato de etilo (10.06 %), ácido palmítico (7.16 %), 4H-piran-4-ona, 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil (5.28 %) y palmitato de etilo (4.26 %). Los compuestos con menor proporción, pero con actividades biológicas importantes para la evaluación antimicrobiana de este estudio fueron (-)-trans-Pinano (1.38 %), 9,17-Octadecadienal, (Z) (0.94 %) y cariofileno (0.84 %). En la figura 100 se puede observar los 10 picos identificados en el cromatograma como compuestos con actividad biológica reportada.

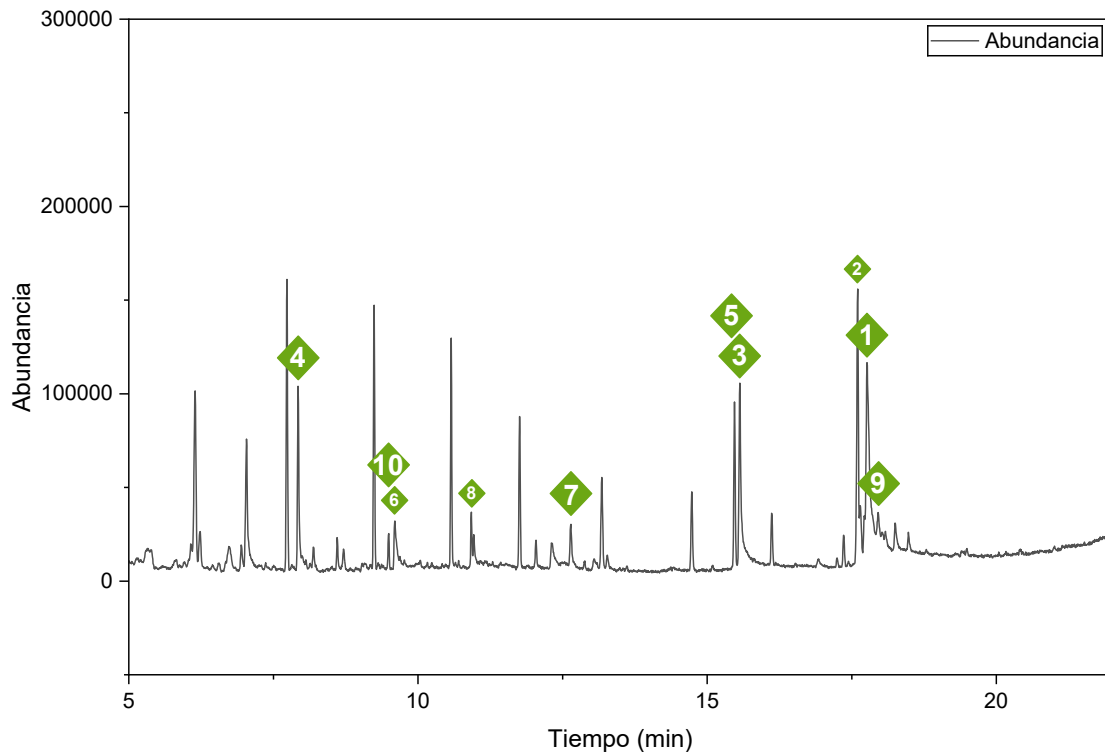
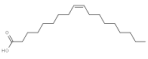

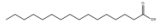


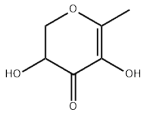
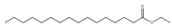
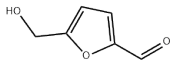
Figura 100. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto etanólico de *Paronychia argentea* Lam. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 10 compuestos.

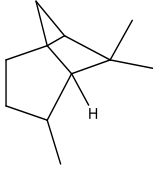
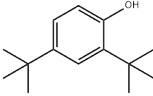

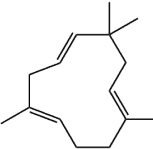
En la tabla 18, se presentan los compuestos químicos obtenidos en el extracto etanólico de *P. argentea* Lam. Dentro de los 10 compuestos identificador por CG-EM, 7 compuestos presentan actividad antibacteriana, siendo estos el ácido oleico, ácido palmítico, 4H-piran-4-ona, 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil, palmitato de etilo, (-)-trans-Pinano, 9,17-Octadecadienal, (Z) y cariofileno. Estos compuestos pudieron actuar en sinergia para inhibir el crecimiento de *E. coli.*, *K. pneumoniae* y *S. aureus*.

Tabla 18. Compuestos encontrados en el extracto etanólico de la planta de *Paronychia argentea* Lam., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).

<i>Paronychia argentea</i> Lam. H/R en Etanol				
Compuesto fitoquímico	Tipo de compuesto	Actividad reportada	% Área	Referencia
1	Ácido oleico	Ácido graso insaturado	11.77	(Agada <i>et al.</i> , 2019).

	(Ácido (Z)-octadec-9-enoico) 		antiinflamatoria, antitumoral, inmunoestimulante, antiandrogénica, antibacteriana, antifúngica, actúa como lubricante, aglutinante, antiespumante, factor importante en el efecto hipoglucemiante, disolvente farmacéutico		(ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
2	Oleato de etilo 	Éster de ácido graso	Acaricida, disolvente en productos pesticidas	10.06	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
3	Ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico) 	Ácido graso saturado, ácido carboxílico	Lubricante, aglutinantes, agente antiespumante, desinfectante, antioxidante, antiinflamatoria, hipocolesterolémica, antiandrogénica, antibacteriano, antifúngico	7.16	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (Khelfi <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
4	4H-piran-4-ona, 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil	Piranona	Antioxidante, antibacteriana y antifúngica, rompe cadenas de ADN	5.28	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).

	(oxipiranos, piranonas) 				(Shankaranarayana <i>et al.</i> , 2024). (Yu <i>et al.</i> , 2013).
5	Éster etílico del ácido hexadecanoico (palmitato de etilo) 	Éster de ácido graso	Antiinflamatoria, antimicrobiano, antioxidante, hipocolesterolémico, nematocida, agente aromatizante, lubricante, emoliente en cosméticos	4.26	(ChemicalBook, 2023). (Fuentes <i>et al.</i> , 2024). (Muhammad <i>et al.</i> , 2015). (PubChem, 2025).
6	5-hidroximetil-2-furaldehído (2-Furancarboxaldehído, 5-hidroximetil); 5-hidroximetilfurfural; 5-HMF 	Aldehído alifático acíclico Furano	Indicador de calidad en productos alimenticios, antioxidante, suprime la producción de fenotipos de virulencia controlados por quorum sensing (QS) y la formación de biopelículas en <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , se usa en la síntesis de prepolímero y precursor antiviral, 5,5'-oxi(bismetilen)-2-furaldehído (OBMF)	2.33	(ChemicalBook, 2023). (Merck KGaA, 2025). (PubChem, 2025). (Rajkumari <i>et al.</i> , 2019).

7	(-)-trans-Pinano 	Compuesto orgánico bicíclico	Agente aromático y saborizante, repelente de insectos, antimicrobiano	1.38	(ChemicalBook, 2023). (Ontosight, 2025).
8	Fenol, 2,4-bis(1,1-dimetiletil) (2,4-Di-terc-butilfenol) 	Alcohol fenólico, alquilbenceno	Metabolito bacteriano, antioxidante y metabolito marino	1.26	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
9	9,17-Octadecadienal, (Z) 	Aldehído insaturado	Insecticida, antieccemático, nematocida, antihistamínico y antimicrobiano	0.94	(Frag et al., 2021). (Krishnamoorthy et al., 2014).
10	Cariofileno 	Sesquiterpeno	Antiinflamatorio no esteroideo, fragancia, metabolito, atrayente de insectos, antioxidante, antifúngico, antibacteriano y con propiedades citotóxicas	0.84	(ChemicalBook, 2023). (Dahham et al., 2015). (PubChem, 2025).

En la figura 101 se puede observar el cromatograma obtenido del extracto de cloroformo de *P. argentea* Lam., donde se identificaron 18 compuestos bioactivos enumerados en los picos del cromatograma. Los compuestos con más abundantes en el extracto fueron 1,19-eicosadieno (21.47 %), ácido cis-vacénico (9.04 %) y alcohol behenílico (7.41 %), estos tres compuestos poseen actividad antibacteriana y antimicrobiana.

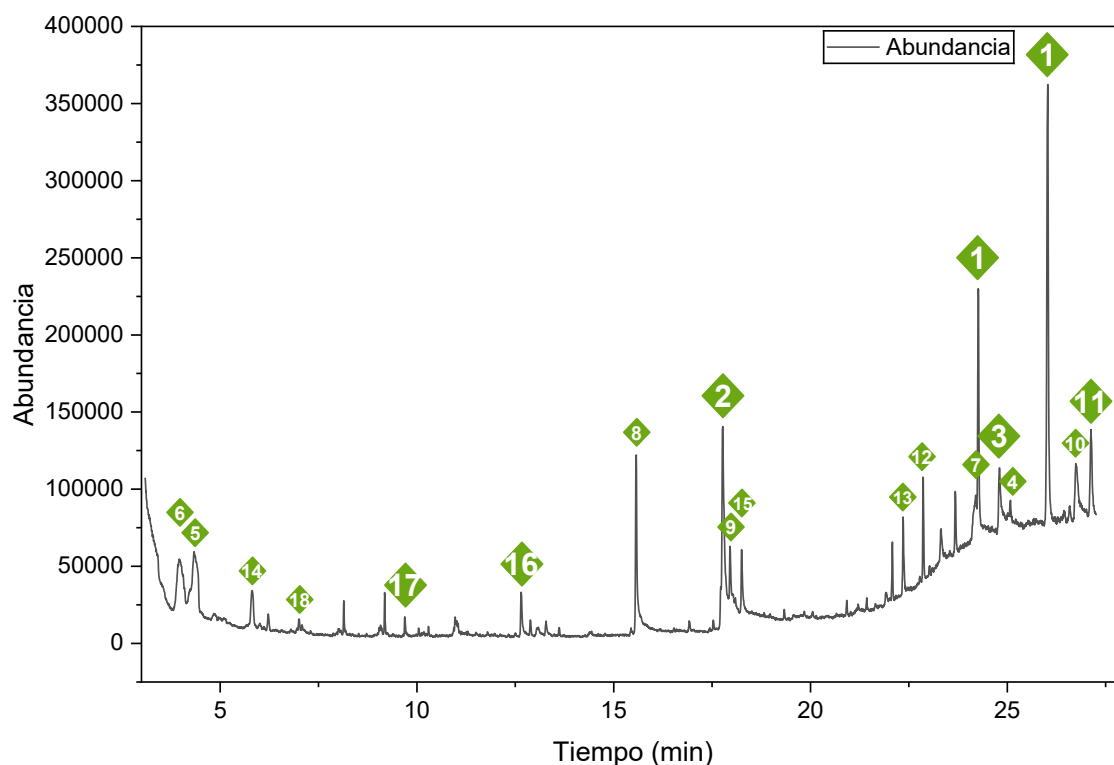

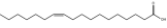
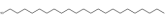
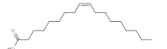
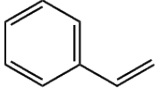


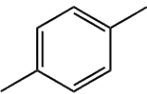
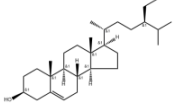
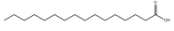
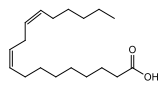
Figura 101. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de cloroformo de *Paronychia argentea* Lam. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 18 compuestos.


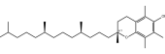

En la tabla 19 se detallan las actividades de los 18 compuestos bioactivos que se identificaron en el extracto de la planta sanguinaria en cloroformo. En este extracto se encontraron 12 compuestos con actividad antimicrobiana.


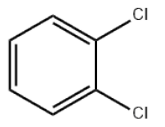
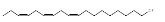
Tabla 19. Compuestos encontrados en el extracto de cloroformo de la planta de *Paronychia argentea* Lam., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).

<i>Paronychia argentea</i> Lam. H/R en Cloroformo				
Compuesto fitoquímico	Tipo de compuesto	Actividad reportada	% Área	Referencia
1 1,19- eicosadieno 	Hidrocarburo (alqueno)	Propiedades relevantes para biocombustibles y lubricantes, antibacteriano contra <i>Lactococcus garvieae</i>	21.47	(PubChem, 2025). (Rodríguez, 2015).

2	<p>Ácido cis-vacénico [(E)-11-octadecenoico]</p> 	Ácido graso	Anticancerígena, antibacteriana y antibiofilm	9.04	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025). (Yazici <i>et al.</i> , 2024).
3	<p>Alcohol behenílico (n-docosanol)</p> 	Alcohol graso primario	Metabolito vegetal, antiviral, antibacteriano, surfactante en cosméticos	7.41	(ChemicalBook, 2023). (Ferrerira <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
4	<p>Ácido oleico (Ácido (Z)-octadec-9-enoico)</p> 	Ácido graso insaturado	Antioxidante, antiinflamatoria, antitumoral, inmunoestimulante, antiandrogénica, antibacteriana, antifúngica, actúa como lubricante, aglutinante, antiespumante, factor importante en el efecto hipoglucemiante, disolvente farmacéutico	6.5	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
5	<p>Estireno</p> 	Hidrocarburo aromático	Antitusivo, expectorante y anticolinérgico, agente aromático	6.18	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).

6	<p>p-xileno</p> 	Hidrocarburo aromático	Disolvente, materia prima, esterilizante de catgut y en microscopía	5.45	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
7	<p>Beta-sitosterol (sitosterol)</p> 	Fitoesterol	Antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria, angiogénica, quimiopreventiva, inmunomodulador y antilipémico	4.96	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
8	<p>Ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico)</p> 	Ácido graso saturado, ácido carboxílico	Lubricante, aglutinantes, agente antiespumante, desinfectante, antioxidante, antiinflamatoria, hipocolesterolémica, antiandrogénica, antibacteriano, antifúngico	4.64	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (Khelfi <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
9	<p>Ácido 9,12-octadecadienoico (Z,Z)- (ácido linoleico)</p> 	Ácido graso poliinsaturado	Antiinflamatorio, antibacteriano, hidratante, cicatrizante, mejora la eficacia de los fármacos anticancerígenos, previene la hiperlipidemia, reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares, trata la	3.76	(Casillas <i>et al.</i> , 2021). (ChemicalBook, 2023). (DrugBank, 2025). (PubChem, 2025).

			deficiencia o desequilibrio dietético, emulsionante, limpiador, emoliente y acondicionador de la piel		
10	1-heptacosanol (heptacosanol) 	Alcohol graso primario	Actividad antimicrobiana y antioxidante, actividad antibacteriana frente <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> , y actividad antifúngica significativa contra todas las <i>Candida</i> spp.	3.27	(ChemicalBook, 2023). (Sánchez et al., 2021). (Vambe et al., 2020).
11	Vitamina E (α-tocoferol) 	Tocoferol	Antioxidante, fotoprotector, hidratante, antiinflamatorio, nutracéutico, antiaterogénico, anticoagulante, inmunomodulador, antiviral, micronutriente, combate bacterias y virus invasores	2.99	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
12	Octadecanal (Estearaldehído, octadecanal dehído) 	Aldehído alifático	Agente saborizante en la industria alimentaria, preparación de anfifilos dinámicos marcados con fluorescencia para el análisis del transporte iónico transmembrana, la	2.40	(ChemicalBook, 2023). (Cymit Química, 2025).

			detección y la captación celular		
13	<p>Octacosano</p> 	<p>Hidrocarburo alifático saturado</p>	<p>Antibacteriana, larvicida, antitumoral, antioxidante, potencial de cicatrización de heridas</p>	1.96	<p>(Balachandran <i>et al.</i>, 2023). (ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).</p>
14	<p>Benceno, 1,2-dicloro (1,2-diclorobenceno)</p> 	<p>Compuesto aromático clorado</p>	<p>Fumigante e insecticida</p>	1.92	<p>(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).</p>
15	<p>9,12,15-octadecatrien-1-ol, (Z,Z,Z) (Alcohol linolenílico)</p> 	<p>Alcohol primario</p>	<p>Agente antibacteriano</p>	1.72	<p>(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).</p>
16	<p>Biciclo[3.1.1]heptano, 2,6,6-trimetil (Pinano, pinane)</p>	<p>Monoterpeno</p>	<p>Actividad antioxidante, antifúngica, antiagregante, anticoagulante y antimicótica</p>	1.09	<p>(ChemicalBook, 2023). (Zielińska <i>et al.</i>, 2020)</p>

17	2-Propenal, 3-fenil (cinamalaldehído) 	Flavonoide Éster de ácido carboxílico aromático	Hipoglucemiante, vasodilatador, antifúngico, antibacteriano, aromatizante, antitumoral, metabolito vegetal y sensibilizante, actúa en sinergia con la ceftriaxona	0.30	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025). (Thirapanmethee <i>et al.</i> , 2021). (Yin <i>et al.</i> , 2023).
18	Acetofenona 	Cetona	Citotoxicidad, antimicrobiana, analgésica, antipalúdica, antioxidante, cardioprotectora, neuroprotectora y antidiabética	0.26	(Ahmadpourmir <i>et al.</i> , 2024). (ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).

En la figura 102 se puede visualizar el cromatograma obtenido del extracto de hexano de *P. argentea* Lam., analizado por CG-EM. Se encontraron 10 compuestos con actividad biológica reportada en la literatura. Los compuestos con mayor proporción fueron 3-Metil-2-ciclopenten-1-ona (4.42 %), formicina (3.5 %) y benceno, 1,2,3-trimetil (2.08 %). Los dos primeros compuestos presentan actividad antibacteriana.

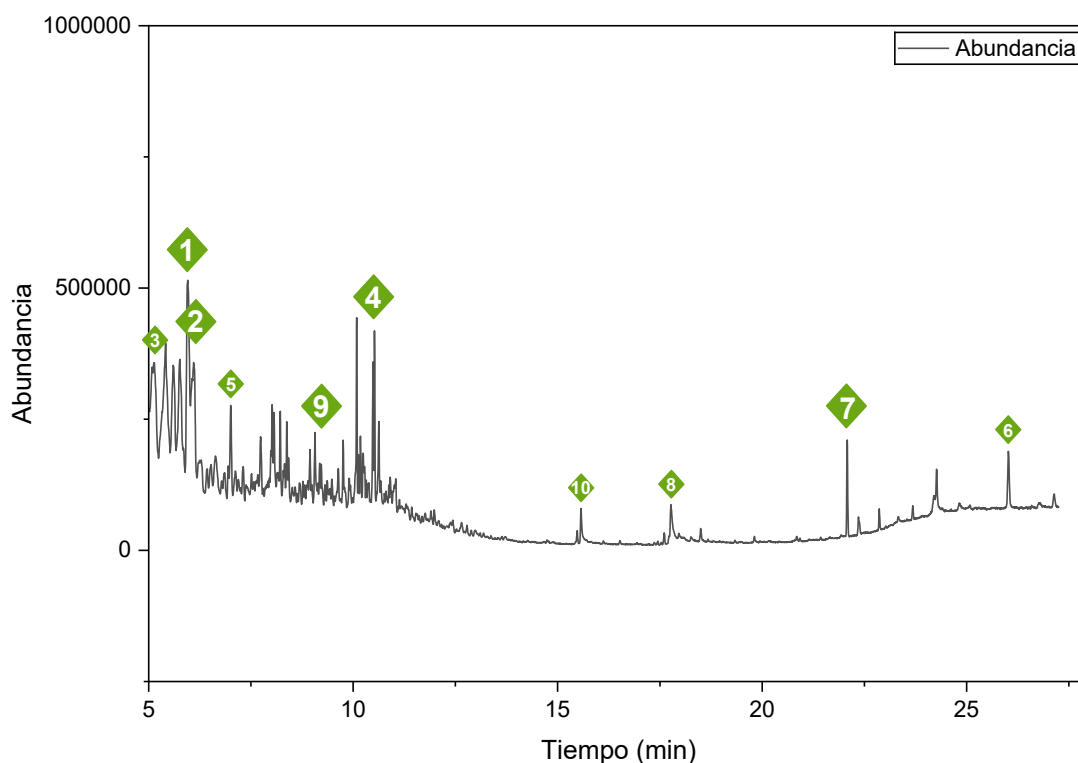

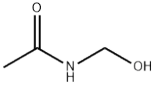
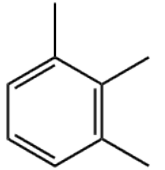
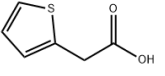




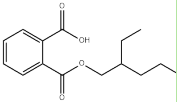
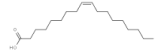
Figura 102. Cromatograma obtenido mediante CG-EM del fitoextracto de hexano de *Paronychia argentea* Lam. extraído por el método de maceración/sonicación, se identificaron 10 compuestos.



En la tabla 20 se pueden encontrar los fitocompuestos señalados por numeración en el cromatograma correspondiente al extracto de sanguinaria en el disolvente hexano (figura 102). En este extracto se identificaron 8 compuestos con actividad antimicrobiana.

Tabla 20. Compuestos encontrados en el extracto de hexano de la planta de *Paronychia argentea* Lam., mediante Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (CG-EM).

<i>Paronychia argentea</i> Lam. H/R en Hexano				
Compuesto fitoquímico	Tipo de compuesto	Actividad reportada	% Área	Referencia
1 3-Metil-2-ciclopenten-1-ona (2-Ciclopenten	Cetona cíclica	Aditivo alimentario, aromatizante, intermedio utilizado en síntesis orgánica, productos farmacéuticos y agroquímicos.	4.42	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025). (Quin <i>et al.</i> , 2019).

	-1-ona, 3-metil- 		Efectos antiinflamatorios y antibacterianos		(Smolecule, 2024).
2	N-hidroximetil acetamida (formicina) 	Aminoalcohol	Antiséptico, desinfectante especial para instrumental quirúrgico.	3.5	(ChemicalBook, 2023). (Fillintrip, 2025). (PubChem, 2025).
3	Benceno, 1,2,3-trimetil (1,2,3-trimetilbenceno; hemelitol) 	Hidrocarburo aromático	Ingrediente inerte en formulaciones de pesticidas	2.08	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
4	Ácido 2-tiofenacético 	Tiofenos, ácido monocarboxílico	Intermedio farmacéutico para la fabricación de cefaloridina y la cefalotina sódica (antibióticos)	2.0	(ChemicalBook, 2023). (PubChem, 2025).
5	Tridecano 	Hidrocarburo (alcano)	Componente de fragancia, intermedio químico y disolvente (tintas y desengrasantes), antioxidante y antimicrobiano	1.15	(More <i>et al.</i> , 2022). (PubChem, 2025).

6	<p>1,19- eicosadieno</p> 	<p>Hidrocarburo (alqueno)</p>	<p>Propiedades relevantes para biocombustibles y lubricantes, antibacteriano contra <i>Lactococcus garvieae</i></p>	<p>0.76</p>	<p>(PubChem, 2025). (Rodríguez, 2015).</p>
7	<p>Ácido 1,2- bencenodica rboxílico, mono-(2- etilhexil) éster</p> <p>(Ftalato de mono(2- etilhexilo); Éster mono(2- etilhexílico) del ácido 1,2- bencenodica rboxílico)</p> 	<p>Ácido conjugado</p>	<p>Metabolito del ftalato que induce apoptosis en células germinales y de Sertoli, potencial actividad antimicrobiana</p>	<p>0.75</p>	<p>(ChemicalBo ok, 2023). (Osman <i>et al.</i>, 2024). (PubChem, 2025).</p>
8	<p>Ácido oleico (Ácido (Z)- octadec-9- enoico)</p> 	<p>Ácido graso insaturado</p>	<p>Antioxidante, antiinflamatoria, antitumoral, inmunoestimulante, antiandrogénica, antibacteriana, antifúngica, actúa como</p>	<p>0.75</p>	<p>(Agada <i>et al.</i>, 2019). (ChemicalBo ok, 2023). (Ferreira <i>et al.</i>, 2024).</p>

			lubricante, aglutinante, antiespumante, factor importante en el efecto hipoglucemiante, disolvente farmacéutico		(PubChem, 2025).
9	1-hexacosanol (alcohol cerilo) 	Alcohol graso primario	Metabolito vegetal e insecticida, antiinflamatorio, antioxidante, reduce síntomas de la enfermedad del Parkinson	0.37	(ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).
10	Ácido n-hexadecanoico (ácido palmítico) 	Ácido graso saturado, ácido carboxílico	Lubricante, aglutinantes, agente antiespumante, desinfectante, antioxidante, antiinflamatoria, hipocolesterolémica, antiandrogénica, antibacteriano, antifúngico	0.36	(Agada <i>et al.</i> , 2019). (ChemicalBook, 2023). (Ferreira <i>et al.</i> , 2024). (Khelfi <i>et al.</i> , 2024). (PubChem, 2025).

Después de analizar los compuestos identificados en los extractos correspondientes, en el extracto etanólico de las plantas de *A. annua* L. y *H. sabdariffa* L. se encontró mayor cantidad de fitocompuestos para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. Por otro lado, en el extracto de cloroformo de *P. argentea* Lam. se encontraron más fitocompuestos con actividad antimicrobiana.

Resulta importante señalar que, en el caso de *Shigella* sp., que es un microorganismo gramnegativo, los compuestos presentes en los tres extractos de estudio no fueron efectivos para su inhibición. Se sugiere que, al tratarse de un microorganismo gramnegativo que posee

una mayor proporción de lipopolisacáridos (LPS) en su membrana externa y una membrana interna con LPS en el exterior y fosfolípido en el interior, dificultó el efecto antibacteriano de los fitocompuestos, al conformar una barrera hidrofóbica en la membrana (Farhana & Khan, 2023). La resistencia de *Shigella* sp. a los fitoextractos puede resultar de varios mecanismos de acción, como la expulsión de fitocompuestos al exterior de la célula por las bombas de eflujo activas, la disminución de la permeabilidad celular y la sobreexpresión de enzimas modificadoras e inactivadoras de fitocompuestos (Ranjbar & Farahani, 2019). Sin embargo, en este estudio *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* y *Salmonella* sp., que son bacterias gramnegativas, fueron sensibles al efecto antibacteriano de los extractos hidroetanólicos, siendo *P. aeruginosa* y *Salmonella* sp, las más sensibles para el extracto de *H. sabdariffa* L., con la CMI más baja del extracto. La susceptibilidad de estas bacterias frente a los fitoextractos se propone que fue debido a su mayor permeabilidad celular.

Los resultados obtenidos indican que la actividad antibacteriana observada podría estar vinculada a distintos mecanismos de acción atribuidos a los fitocompuestos. Entre los mecanismos descritos se incluyen la alteración de la permeabilidad de la membrana, inhibición del metabolismo energético, inducción de estrés oxidativo, interferencia en la síntesis de ADN/ARN, inhibición de la biosíntesis de proteínas, inhibición de las bombas de eflujo, inhibición de la formación de biopelículas bacterianas, inhibición de la síntesis de la envoltura celular e inhibición de la biosíntesis de la pared celular, observar figura 27.

Existen otros reportes donde se indica que el uso de fitoquímicos para tratamientos antimicrobianos radica en su capacidad para interactuar con diferentes clases o subtipos de moléculas, característica conocida como promiscuidad molecular (Guedes *et al.*, 2024). Los antibióticos convencionales tienen un objetivo molecular bacteriano específico, mientras que los fitoquímicos demuestran una capacidad de múltiples objetivos proteicos. La promiscuidad molecular en el ambiente donde se desarrollan las bacterias puede obstaculizar el desarrollo de posibles mecanismos de resistencia, dificultando así su capacidad de sobrevivir (Guedes *et al.*, 2024).

En este estudio se identificó principalmente la presencia de ácido oleico, un ácido graso, mientras que en menor proporción se detectó ácido linoleico en los extractos etanólicos. De acuerdo con Casillas *et al*, 2021, estos compuestos ejercen su efecto antibacteriano

principalmente a través de la inhibición de la biosíntesis de la pared celular en bacterias tanto gramnegativas como grampositivas. La regulación positiva de los precursores de peptidoglicano como pentaglicina, lisina, glutamato, D- alanina , L-alanina y ácido teicoico en presencia de ácido linoleico y ácidos grasos podrían representar una respuesta de la célula a la inhibición de peptidoglucano (figura 103) (Casillas *et al.*, 2021).

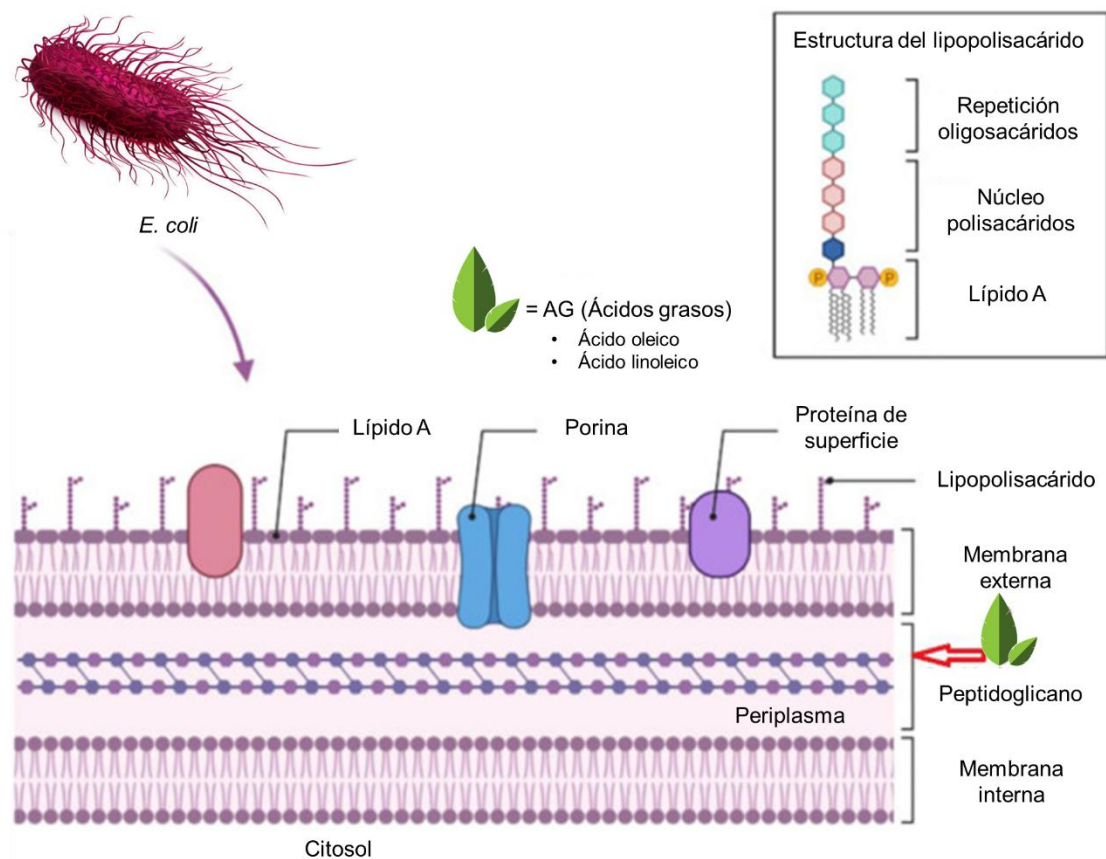


Figura 103. Representación general de los componentes de la pared celular de una bacteria gramnegativa (*E. coli*) que podrían verse afectados por los ácidos grasos (Casillas *et al.*, 2021).

La actividad antibacteriana observada en los ensayos realizados podría estar relacionada con el mecanismo previamente descrito para los ácidos grasos. El ácido linoleico, el cual inhibe de manera potente y selectiva a la proteína FabI, esencial en la biosíntesis de ácidos grasos en *S. aureus* y *E. coli* (Casillas *et al.*, 2021). Estos mecanismos de acción respaldan la participación de los fitocompuestos en el efecto inhibitorio contra las cepas evaluadas.

Algunos factores que pueden influir en la capacidad antimicrobiana frente a las diferentes especies son las condiciones ambientales relacionadas con la procedencia de las plantas

(Sánchez & Collantes, 2021). En este sentido, se ha reportado que las flores y hojas de *A. annua* L. contienen mayor proporción de artemisinina al alcanzar su madurez (Jacobus et al., 2023), *P. argentea* Lam. presenta un alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides ampliamente distribuidos en hojas y semillas (Curini et al., 2024), mientras que *H. sabdariffa* L. tiene altas cantidades de fitocompuestos en sus cálices (Abdalbasit et al., 2021). Finalmente, es importante destacar que los efectos antibacterianos observados no son atribuibles únicamente a un compuesto aislado, como es el caso de los antibióticos, sino a la combinación de compuestos y la acción sinergia entre ellos para lograr inhibir una cepa de importancia médica.

Conclusiones

La resistencia a antibióticos convencionales es uno de los problemas de salud pública más graves a nivel mundial. El estudio de la actividad antimicrobiana con fitoextractos es relevante porque permite identificar nuevas alternativas y fuentes de compuestos bioactivos capaces de enfrentar la creciente resistencia bacteriana, ofreciendo alternativas seguras, sostenibles y con un potencial de aplicación diverso, desde un enfoque farmacéutico, como agentes antimicrobianos o adyuvantes terapéuticos, así como en las industrias cosmética, agrícola y alimentaria como conservantes.

Con base en los objetivos planteados, el presente estudio *in vitro* demostró la actividad antimicrobiana, específicamente antibacteriana de los extractos hidroetanólicos de *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L., y *Paronychia argentea* Lam. contra bacterias de importancia médica debido a su frecuencia clínica, virulencia y creciente resistencia a los antibióticos. Siendo el extracto *H. sabdariffa* L. el más activo, a diferencia del de *A. annua* L. que mostró la menor actividad antibacteriana.

El extracto hidroetanólico de *Artemisia annua* L. presentó mejor inhibición en la bacteria gramnegativa, *Salmonella* sp. Los extractos hidroetanólicos de *Hibiscus sabdariffa* L. y *Paronychia argentea* Lam. presentaron mejor inhibición en la bacteria grampositiva, *Staphylococcus aureus*.

El fitoextracto más eficaz y que inhibió más bacterias de importancia clínica, excepto a *Shigella* sp. fue *Hibiscus sabdariffa* L. *P. aeruginosa* y *Salmonella* sp. mostraron una mayor

sensibilidad, únicamente superadas por *S. aureus*. En un análisis complementario, *Hibiscus sabdariffa* L. y *P. argentea* Lam., mostraron una actividad inhibitoria estadísticamente similar al antibiótico azitromicina frente a *K. pneumoniae*. Por ende, resulta relevante realizar análisis más específicos de los metabolitos responsables de la actividad antibacteriana, ya que podrían constituir una propuesta prometedora como agentes antimicrobianos.

Con la presente investigación microbiológica y el análisis de CG-EM se logró determinar qué extractos podrían emplearse como alternativa terapéutica de origen vegetal para la prevención de infecciones, debido a que su aplicación podría contribuir a la reducción de la infección asociada a los microorganismos correspondientes.

La evidencia del efecto antibacteriano de los extractos de *Artemisia annua* L., *Hibiscus sabdariffa* L., y *Paronychia argentea* Lam., frente a las cepas estudiadas sugiere su aplicación en terapias combinadas. Por lo tanto, se propone que estos extractos podrían actuar en sinergia con los antibióticos, como adyuvantes de antibióticos, mejorando su eficacia y reduciendo potencialmente la cantidad de antibiótico que se requiere para tratar una infección. No obstante, se requiere de más estudios pre-clínicos para conocer si pueden actuar en sinergia. Finalmente, sería interesante evaluar la citotoxicidad frente a estirpes celulares y realizar análisis de biología molecular con el fin de identificar los genes implicados en la resistencia al fitocompuesto o de caracterizar su mecanismo de acción.

Bibliografía

1. Abdalbasit, A., Haroon, E. & Gustav K. (2021). Roselle (*Hibiscus sabdariffa*) Chemistry, production, products, and utilization. ELSEVIER. https://www.researchgate.net/profile/Joseph-Gweyi-Onyango/publication/352524554_Measurement_and_maintenance_of_Hibiscus_sabdariffa_quality/links/656a06f7b86a1d521b2619e7/Measurement-and-maintenance-of-Hibiscus-sabdariffa-quality.pdf
2. Abdelkhalek, A., Al-Askar, A. A., Alsubaie, M. M., & Behiry, S. I. (2021). First report of protective activity of *Paronychia argentea* extract against tobacco mosaic virus infection. *Plants*, 10 (11), 2435. <https://doi.org/10.3390/plants10112435>
3. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) (2024). Investigación sobre el brote de *E. coli* O157:H7: Cebollas. <https://www.fda.gov/food/outbreaks-foodborne-illness/investigacion-sobre-el-brote-de-e-coli-o157h7-cebollas-octubre-de-2024>
4. Agada, R., Abdullahi, W. & Shehu, S. (2019). GC–MS and FTIR Analysis of Crude Extracts of *Carica Papaya* Seed. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, AJBAS. [https://www.ajbasweb.com/old/ajbas/2019/November/51-59\(7\).pdf](https://www.ajbasweb.com/old/ajbas/2019/November/51-59(7).pdf)
5. Agilent. (2024). Principios de cromatografía de gases: <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography-mass-spectrometry-gc-ms/gcms-fundamentals>
6. Agoramoorthy, G., Chandrasekaran, M., Venkatesalu, V. & Hsu, M. (2007). Antibacterial and antifungal activities of fatty acid methyl esters of the blind-your-eye mangrove from India. *Brazilian Journal of Microbiology*, Braz. J. Microbiol. <https://www.scielo.br/j/bjm/a/NjyQZyKLYbSV5skPY3jBvDm/?format=pdf&lang=en>
7. Agung, T., Khalimi, K. & Kusuma, P. (2022). Effect of bacterial volatile compoundson pakcoy (*Brassica rapa* L.) growth promotion. *International Journal of Biosciences and Biotechnology*, IJBB. <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jbb/article/view/89572/45343>
8. Ahamd, N., Khan, R., & Ahmad, I. Z. (2023). *Artemisia annua* L.: Comprehensive review of pharmacological properties. En *medicinal and aromatic plants of India*, vol. 2 (pp. 79–92). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-44914-7_5 https://springerlink.bibliotecabuap.elogim.com/chapter/10.1007/978-3-031-44914-7_5
9. Ahmadpourmir, H., Attar, H., Asili, J. *et al.* (2024). Acetofenonas de origen natural: química y actividades farmacológicas. *Nat. Prod. Bioprospect.* Springer Nature Link. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13659-024-00447-x#citeas>
10. Ahmed, H. K., & Ahmed, W. M. (2024). New Discoveries Toxins from Gram Negative Bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*). En *Microbial Toxins in Food Systems: Causes, Mechanisms, Complications, and Metabolism* (pp. 263–276). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-62839-9_20
11. Ajaib, M., Khan, Z., Khan, N. A. S. R. U. L. A. H., & Wahab, M. (2010). Ethnobotanical studies on useful shrubs of district Kotli, Azad Jammu & Kashmir, Pakistan. *Pak. J. Bot.*, 42(3), 1407-141. [https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/42\(3\)/PJB42\(3\)1407.pdf](https://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/42(3)/PJB42(3)1407.pdf)

12. Ajmera, A., & Shabbir, N. (2023). *Salmonella*. En StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555892/>
13. Alenizi, A., Shibli, R. A. A., Tahtamouni, R. W., Al-Qudah, T. S., & Abu-Iramaileh, B. (2020). In vitro propagation and enhancement of quercetins and isorhamnetin production in wild *Paronychia argentea* L. Jordan J. Pharm. Sci, 13(1), 65–75. <https://bibliotecabuap.elogim.com/auth-meta/login.php?url=https%3a%2f%2fsearch.ebscohost.com%2flogin.aspx%3fdirect%3dtrue%26db%3dasn%26AN%3d141993904%26lang%3des%26site%3dehost-live%26scope%3dsite>
14. Appalasamy, S., Lo, K. Y., Ch'ng, S. J., Nornadia, K., Othman, A. S., & Chan, L.-K. (2014). Antimicrobial Activity of Artemisinin and Precursor Derived from In Vitro Plantlets of *Artemisia annua* L. BioMed Research International. <https://doi.org/10.1155/2014/215872>
15. Arafı, V., Hasani, A., Sadeghi, J., Varshochi, M., Poortahmasebi, V., Hasani, A., & Hasani, R. (2023). Uropathogenic *Escherichia coli* endeavors: An insight into the characteristic features, resistance mechanism, and treatment choice. Archives of Microbiology, 205(6), 1–21. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03553-5>
16. Arkoub, L., González, V., López, M. E., & Bedjou, F. (2020). *Paronychia argentea* Lam. protects renal endothelial cells against oxidative injury. J Ethnopharmacol, 248, 112314. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112314>
17. Asokan, S., Jacob, T., Jacob, J., AlSosowaa, Afaf A., Cherian, T., Peijnenburg, W., Vijayan S.. (2025). *Klebsiella pneumoniae*: A growing threat in the era of antimicrobial resistance, The Microbe, Volume 7. ISSN 2950-1946, <https://sciencedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S2950194625001013>
18. Baena, E. S., Piloni-Martini, J., Santos-López, E. M., Gómez-Aldapa, C. A., Rangel-Vargas, E., & Castro-Rosas, J. (2021). Comparison of the antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa* calyx extracts, six commercial types of mouthwashes, and chlorhexidine on oral pathogenic bacteria, and the effect of hibiscus sabdariffa extracts and chlorhexidine on permeability of the bacterial membrane. J Med Food, 24(1), 67–76. <https://doi.org/10.1089/jmf.2019.0273> <https://www.wellesu.com/10.1089/jmf.2019.0273>
19. Balachandran, A., Choi, SB, Beata, M.-M., Małgorzata, J., Froemming, GRA, Lavilla, CA, Jr., Billacura, MP, Siyumbwa, SN y Okechukwu, PN (2023). Antioxidante, potencial de curación de heridas y evaluación in silico de naringina, eicosano y octacosano. Moléculas. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, MDPI. <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/3/1043>
20. Balachandran, A., Choi, SB, Beata, M.-M., Małgorzata, J., Froemming, GRA, Lavilla, CA, Jr., Billacura, MP, Siyumbwa, SN y Okechukwu, PN (2023). Antioxidante, potencial de curación de heridas y evaluación in silico de naringina, eicosano y octacosano. Moléculas. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, MDPI. <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/3/1043>
21. Balkrishna, A., Yadav, P., Yadav, P., Saini, A., Kumar, B., Singh, N., Sharma, D., & Arya, V. P. (2024). Factors affecting biodiversity and conservation of medicinal plants. En ethnopharmacology and omics advances in medicinal plants, vol. 1 (pp. 1–16). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-97-2367-6_1

https://springerlink.bibliotecabuap.elogim.com/chapter/10.1007/978-981-97-2367-6_1

22. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Métodos para evaluar in vitro la actividad antimicrobiana: Una revisión. *J Pharm Anal*, 6(2), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
23. Basavaraju, M., & Gunashree, B. S. (2022). *Escherichia coli*: An Overview of Main Characteristics. En *Escherichia coli—Old and New Insights*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.105508>
24. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M. 1966. Prueba de susceptibilidad a antibióticos mediante un método estandarizado de disco único. *Am J Clin Pathol* 45:493–496.
25. Belarbi, Z., Gamby, J., Colocado, M., Sotta, B., & Tribollet, B. (2014). Inhibition of calcium carbonate precipitation by aqueous extract of *Paronychia argentea*. *J Cryst Growth*, 386, 208–214. <https://sciencedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S0022024813006490>
26. Bernatoniene, J., Nemickaite, E., Majiene, D., Marksa, M., & Kopustinskiene, D. M. (2024). In vitro and in silico anti-glioblastoma activity of hydroalcoholic extracts of *Artemisia annua* L. and *Artemisia vulgaris* L. *Molecules*, 29(11), 2460. <https://doi.org/10.3390/molecules29112460>
27. Bordean, M.-E., Ungur, RA, Toc, DA, Borda, IM, Marțiș, GS, Pop, CR, Filip, M., Vlassa, M., Nasui, BA, Pop, A., Cintează, D., Popa, FL, Marian, S., Szanto, LG y Muste, S. (2023). Detección antibacteriana y fitoquímica de especies de *Artemisia*. Antioxidantes. . Multidisciplinary Digital Publishing Institute, MDPI. <https://www.mdpi.com/2076-3921/12/3/596#>
28. Camou, A., Casas, A., Moreno-Calles, A. I., Aguilera-Lara, J., Garrido-Rojas, D., Rangel-Landa, S., Torres, I., Pérez-Negrón, E., Solís, L., Blancas, J., Guillén, S., Parra, F., & Rivera-Lozoya, E. (2016). Ethnobotany in Mexico: History, development, and perspectives. En *Ethnobotany of Mexico* (pp. 21–39). Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6669-7_2 https://www.researchgate.net/publication/301611272_Ethnobotany_in_Mexico_History_Development_and_Perspectives
29. Cañigüeral, S. & Vanaclocha, B. (2025). Extractos: la concentración, entendiendo la relación droga-extracto (RDE). Universidad de Barcelona. En *fitoterapia.net*. *Chem Nat Compd*. <https://www.fitoterapia.net/publicaciones/tutoriales/tutorial-preparados-fitoterapicos-2241.html>
30. Cano, J. (2022). Las plantas en la ciencia y nuestra vida: inspírate, ámate y descúbrelas. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_6329ba4a963b4.pdf
31. Cantón, R. (2010). Lectura interpretada del antibiograma: Una necesidad clínica. *Enf Infec y Microbiol*, 28(6), 375–385. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.01.001>
32. Casillas, G., Ocasio, C., Medina, S., Morales, C., Del Valle, R. G., Carballeira, N. M., & Sanabria Ríos, D. J. (2021). Antibacterial fatty acids: An update of possible mechanisms of action and implications in the development of the next-generation of antibacterial agents. *Prog. Lipid Res.*, 82, 101093. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163782721000096#f0050>

33. Cayman Chemical Company. (2023). *Safety Data: Arteannuin B (Item No. 33852)* [PDF]. Cayman Chemical Company. <https://cdn.caymanchem.com/cdn/insert/33852.pdf>
34. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 445639, ácido oleico. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Oleic-Acid>.
35. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5363269, oleato de etilo. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5363269>
36. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 985, ácido palmítico. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/985>
37. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 222284, beta-sitosterol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/222284>
38. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 8892, ácido caproico. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8892>
39. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 457801, gamma-sitosterol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/457801>
40. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 2537, alcanfor. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2537#section=Structures>
41. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 12366, palmitato de etilo. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12366>
42. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5281517, beta-farneseno. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281517>
43. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5280450, ácido linoleico. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280450>
44. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 93081, beta-cubebeno. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/beta-Cubebene>
45. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5281515, cariofileno. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281515>
46. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 86609, (-)-alfa-cubebene. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/86609>
47. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 3893, ácido láurico. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3893>

48. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 100197, 3,3,6-Trimetilhepta-1,5-dien-4-ol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/100197>
49. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 2758, eucaliptol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2758>
50. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 10922465, ácido artemisinico. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10922465>
51. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 6543478, arteannuin B. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6543478>
52. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 11040657, norborneol, exo-. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/11040657#section=Consolidated-References>
53. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 12408, octacosano. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12408#section=Absorption-Distribution-and-Excretion>
54. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 7809, p-xileno. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7809#section=Uses>
55. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5367391, 2,4-heptadien-1-ol, (2E,4E)-. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5367391>
56. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 442393, beta-selineno. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/442393>
57. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 229406, 4-hidroxi-2,5-dimetilhexan-3-ona. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/229406>
58. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 6420396, ácido oxálico, éster isoheptil neopentílico. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6420396>
59. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 17691, 3-metil-2-ciclopenten-1-ona. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/17691>
60. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 15970, ácido 2-tiofenacético. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/15970>
61. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 69365, formicina. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/69365#section=Literature>
62. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 20393, ftalato de mono-(2-etilhexilo). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/20393>

63. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 4685, 1,4-diclorobenceno. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4685>
64. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5364759, 9-hexadecenoato de etilo. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5364759>
65. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 237332, 5-hidroximetilfurfural. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/237332>
66. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 10341, 2(5H)-furanona. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10341>
67. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 145386, 2-hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetrametil. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/145386>
68. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5281, ácido esteárico. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281>
69. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 7501, estireno. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7501>
70. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 7239, 1,2-diclorobenceno. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_2-Dichlorobenzene
71. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 6436081, alcohol linolenílico. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6436081>
72. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 7410, acetofenona. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7410>
73. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 3314, eugenol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3314>
74. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 537288, biciclo[3.3.1]nonano-2,4-diona, 9,9-dimetoxi-. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/537288>
75. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 17291, 3-metoxi-1-butanol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/17291>
76. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 12388, tridecano. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12388>
77. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 6421700, ácido sulfuroso, éster ciclohexilmetil undecílico. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Sulfurous-acid_cyclohexylmethyl_undecyl-ester

78. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 20993, 1-clorohexadecano. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/20993>
79. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 119838, 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/119838>
80. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 10129, pinane. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pinane>
81. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 96-76-4, 2,4-di-terc-butilfenol. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5212282_EN.htm
82. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 519006, 1,19-eicosadieno. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_19-Eicosadiene
83. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 5282761, ácido vaccénico, cis-. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5282761>
84. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 12620, docosanol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12620>
85. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 14985, alfa-tocoferol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vitamin-E>
86. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 637511, cinamaldehído. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/637511>
87. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 10686, Trimetilbenceno. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10686>
88. Centro Nacional de Información Biotecnológica (2025). Resumen de compuestos de PubChem para CID 68171, 1-Hexacosanol. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/68171>
89. Chebbac, K., Benziane Ouaritini, Z., El Moussaoui, A., Chalkha, M., Lafraxo, S., Bin Jardan, Y. A., Nafidi, H.-A., Bourhia, M., & Guemmouh, R. (2023). Antimicrobial and Antioxidant Properties of Chemically Analyzed Essential Oil of *Artemisia annua* L. (Asteraceae) Native to Mediterranean Area. *Life*, 13(3), Article 3. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/life13030807>
90. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. (-)-Alcanfor, CAS: 464-48-2. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3141094_EN.htm
91. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. (-)-alfa-Cubebene, CAS: 17699-14-8. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB9753587_EN.htm

92. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. (3beta,24S)-estigmast-5-en-3-ol, CAS: 83-47-6.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB9932128_EN.htm
93. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. (9Z,12Z,15Z)-9,12,15-octadecatrien-1-ol, CAS: 506-44-5.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB0879596_EN.htm
94. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. (E)-beta-farneseno, CAS: 18794-84-8.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB2672735_EN.htm
95. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 1,2,3-trimetilbenceno, CAS: 526-73-8.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB6853732_EN.htm
96. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 1,2-diclorobenceno, CAS: 95-50-1.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB9406935_EN.htm
97. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 1,4-diclorobenceno, CAS: 106-46-7.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB9329690_EN.htm
98. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 1,8-Cineol, CAS: 470-82-6.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB2853653_EN.htm
99. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 1-clorohexadecano, CAS: 4860-03-1.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB4206260_EN.htm
100. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 1-heptacosanol, CAS: 2004-39-9.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB7244113_EN.htm
101. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 2(5H)-furanona, CAS: 497-26-4.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3201475_EN.htm
102. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 2,3-Dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4(H)-piran-4-ona, CAS: 28564-83-2.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB81073801_EN.htm
103. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 2,4-Di-terc-butilfenol, CAS: 96-76-4.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5212282_EN.htm
104. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 2,4-Heptadien-1-ol, CAS: 33467-79-7.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB4398826_EN.htm
105. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol, CAS: 102608-53-7.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB2115511_EN.htm
106. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 3-metilciclopent-2-en-1-ona, CAS: 2758-18-1.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB9246368_EN.htm

107. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 3-Metoxi-1-butanol, CAS: 2517-43-3.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1686966_EN.htm
108. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. 5-Hidroximetilfurfural, CAS: 67-47-0.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB6266813_EN.htm
109. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Acetofenona, CAS: 98-86-2.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5694882_EN.htm
110. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Ácido 2-tiofenacético, CAS: 1918-77-0.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB7145823_EN.htm
111. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Ácido caproico, CAS: 142-62-1.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3224164_EN.htm
112. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Ácido cis-vacénico, CAS: 506-17-2.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB7341292_EN.htm
113. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Ácido esteárico, CAS: 57-11-4.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB4853859_EN.htm
114. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Ácido láurico, CAS: 143-07-7.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB0357278_EN.htm
115. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Ácido linoleico, CAS: 60-33-3.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5764024_EN.htm
116. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Ácido oleico, CAS: 112-80-1.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB7228241_EN.htm
117. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Ácido palmítico, CAS: 57-10-3.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB9388222_EN.htm
118. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Ácido sulfuroso, éster butil heptadecílico, CAS: 959067-55-1.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB513137013_EN.htm
119. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Alfa-Cariofileno, CAS: 6753-98-6.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5454741_EN.htm
120. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Arteannuin, CAS: 50906-56-4.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB41178054_EN.htm
121. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Beta-sitosterol, CAS: 83-46-5.
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB4345688_EN.htm

122. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, CAS: 1632-68-4. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB9370748_EN.htm
123. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Bicyclo[3.3.1]nonano-2,4-diona, 9,9-dimetoxi-, CAS: 117132-08-8. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB46159328_EN.htm
124. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Cinamaldehído, CAS: 104-55-2. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1168459_EN.htm
125. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Cis-pinane, CAS: 6876-13-7. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1207897_EN.htm
126. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Cubebeno, CAS: 13744-15-5. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB31073710_EN.htm
127. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Estearaldehído, CAS: 638-66-4. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1879513_EN.htm
128. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Éster etílico del ácido palmítico, CAS: 628-97-7. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB9854033_EN.htm
129. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Éster etílico del ácido palmitoleico, CAS: 56219-10-4. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1717451_EN.htm
130. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Éster mono-2-etilhexílico del ácido ftálico, CAS: 4376-20-9. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB5477490_EN.htm
131. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Estireno, CAS: 100-42-5. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3415111_EN.htm
132. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Eugenol, CAS: 97-53-0. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB7208326_EN.htm
133. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Hexacosanol, CAS: 506-52-5. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB3323474_EN.htm
134. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Isobutiroína, CAS: 815-77-0. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB81075294_EN.htm
135. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. N-(hidroximetil)acetamida, CAS: 625-51-4. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1204472_EN.htm
136. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. n-Docosanol, CAS: 661-19-8. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB6219657_EN.htm

137. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. N-octacosano, CAS: 630-02-4. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB2339962_EN.htm
138. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Oleato de etilo, CAS: 111-62-6. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB7301038_EN.htm
139. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Pinacol, CAS: 76-09-5. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1403084_EN.htm
140. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Pinane, CAS: 473-55-2. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB8207896_EN.htm
141. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. P-xileno, CAS: 106-42-3. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB2136488_EN.htm
142. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. Vitamina E, CAS: 2074-53-5. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1275359_EN.htm
143. ChemicalBook. (2023). Propiedades químicas del producto. β -selineno, CAS: 17066-67-0. https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB41175260_EN.htm
144. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2024). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 34th. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-170-3 [Print]; ISBN 978-1-68440-171-0 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2024.
145. Corral-Lugo, A., Morales-García, Y. E., Pazos-Rojas, L. A., Martínez-Contreras, R. D., & Muñoz-Rojas, J. (2012). Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de “Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo”. <https://www.redalyc.org/pdf/776/77625517016.pdf>
146. Cupido, M., De-Nova, J. A., Cilia-López, V. G., Cupido, M., De-Nova, J. A., & Cilia-López, V. G. (2024). Aproximaciones evolutivas en etnobotánica de plantas medicinales y bioprospección. Bot Sci. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-42982024000100026&script=sci_arttext#B68
147. Curini M, Epifano F, Menghini L, Pagiotti R. (2024). *Paronychia* sp. En fitoterapia.net. Chem Nat Compd. 2004; 2: 190-191. <https://www.fitoterapia.net/vademecum/plantas/sanguinaria.html>
148. Cymit Química SL. (2025). CAS 497-37-0: exo-Norborneol. https://cymitquimica.com/cas/497-37-0/?srsltid=AfmBOopa2RDVZrNVhWBHDNNIYE6F4g3iGJZODpKr_KvD66-TzGXddyG0
149. Cymit Química SL. (2025). CAS 638-66-4: Octadecanal. <https://cymitquimica.com/es/cas/638-66-4/?srsltid=AfmBOor75XztmjLDoH4RKXmkcGpqATgY4nZEws85GY8sqndvExy8eN1a>
150. Dahham, S. S., Tabana, Y. M., Iqbal, M. A., Ahamed, M. B., Ezzat, M. O., Majid, A. S., & Majid, A. M. (2015). The Anticancer, Antioxidant and Antimicrobial

- Properties of the Sesquiterpene β -Caryophyllene from the Essential Oil of *Aquilaria crassna*. *Molecules* (Basel, Switzerland). National Library of Medicine. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6331975/>
151. Díaz, R., Álvarez-Martínez, F. J., Falco, A., Barrajon-Catalán, E., & Mallavia, R. (2023). Phytochemical-based nanomaterials against antibiotic-resistant bacteria: *Polym. Rev*, 15(6), 1392. <https://doi.org/10.3390/polym15061392>
 152. Dong, S., Yang, X., Zhao, L., Zhang, F., Houd, Z., & Xue, P. (2020). Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. Husks against foodborne pathogenic bacteria. *Industrial Crops and Products*. Science Direct. <https://sciencedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S0926669020302661>
 153. DrugBank. (2025). Ácido linolénico (DB00132). DrugBank Online. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00132>
 154. Duda-Madej, A., Viscardi, S., Pacyga, K., Kupczyński, R., Mączka, W., Grabarczyk, M., Pacyga, P., Topola, E., Ostrówka, M., Bania, J., Szumny, A., & Wińska, K. (2024). Antibiofilm and Antimicrobial Potentials of Novel Synthesized Sulfur Camphor Derivatives. *International journal of molecular sciences*, *Int. J. Mol. Sci.* <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11507198/>
 155. Duffey, M., Jumde, R. P., da Costa, R. M. A., Ropponen, H.-K., Blasco, B., & Piddock, L. J. V. (2024). Extending the Potency and Lifespan of Antibiotics: Inhibitors of Gram-Negative Bacterial Efflux Pumps. *ACS Infectious Diseases*, 10(5), 1458–1482. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.4c00091>
 156. Ekiert, H., Świątkowska, J., Klin, P., Rzepiela, A., & Szopa, A. (2021). *Artemisia annua* – importance in traditional medicine and current state of knowledge on the chemistry, biological activity and possible applications. *Planta Medica*, 87(08), 584–599. <https://doi.org/10.1055/a-1345-9528>
 157. Farag, S., Essa, E., Alharbi, S., Alfarraj, S. & Hassan, A. (2021). Compuestos derivados de residuos agrícolas (cáscaras de lino y semillas negras): efecto toxicológico contra el vector del virus del Nilo Occidental, *Culex pipiens* L., con especial referencia al análisis GC-MS. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *Saudi J. Biol. Sci.* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X2100406X>
 158. Farhana A. & Khan, Y. (2023). Biochemistry, lipopolysaccharide. *StatPearls Treasure island (FL): StatPearls publishing.* <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554414/>
 159. Faten, A. K., Shibli, R., & Ayed, A. A. (2020). Tracking growth, biochemical responses, and ion uptake in *Paronychia argentea* micro plants grown in vitro under salinity induced environment. *J. Agric. Sci*, 14. https://www.academia.edu/103643956/Tracking_Growth_Biochemical_Responses_and_Ion_Uptake_in_Paronychia_Argentea_Micro_Plants_Grown_in_Vitro_under_Salinity_Induced_Environment
 160. Feng, X., Cao, S., Qiu, F., & Zhang, B. (2020). Traditional application and modern pharmacological research of *Artemisia annua* L. *Pharmacology & Therapeutics*, 216, 107650. ELSEVIER. <https://maison-artemisia.org/wp-content/uploads/2020/12/Feng-et-al-2020-Artemisia-therapeutic-review.pdf>

161. Ferreira, SRL, Araújo, JL, Franco, MS, de Souza, CMM, Pereira, DS, da Rocha, CQ, Rogez, HLG y Muto, NA (2024). Evaluación de los compuestos bioactivos de la miel de *Apis mellifera* obtenidos del néctar floral de Açai (*Euterpe oleracea*). Moléculas. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, MDPI. <https://www.mdpi.com/1420-3049/29/19/4567>
162. Feßler, A. T., Wang, Y., Burbick, C. R., Diaz-Campos, D., Fajt, V. R., Lawhon, S. D., Li, X.-Z., Lubbers, B. V., Maddock, K., Miller, R. A., Papich, M. G., Simjee, S., Sweeney, M. T., Watts, J. L., Wu, C., Shen, J., & Schwarz, S. (2023). Antimicrobial susceptibility testing in veterinary medicine: Performance, interpretation of results, best practices and pitfalls. *One Health Advances*, 1(1), 26. <https://doi.org/10.1186/s44280-023-00024-w>
163. Fuentes Esquivel, DB, Pérez, BR, Betancourt, NT, García Tovar, CG, Penieres Carrillo, JG, Galindo, FH, Flores, JP y Sánchez, TAC (2024). Actividad antimicótica in vitro y daño estructural contra cepas de *Malassezia pachydermatis* canina causadas por propóleo de abeja sin aguijón mexicana. *Ciencias Veterinarias*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, MDPI. <https://www.mdpi.com/2306-7381/11/3/106>
164. Fuzimoto, Andrea. (2021). Una descripción general de las propiedades anti-SARS-CoV-2 de *Artemisia annua*, su acción antiviral, los mecanismos asociados a las proteínas y su reutilización para el tratamiento de la COVID-19. *Rev. Med. Integr. Science Direct*. <https://sciedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S2095496421000637>
165. Guedes, B. N., Krambeck, K., Durazzo, A., Lucarini, M., Santini, A., Oliveira, M. B. P. P., Fathi, F., & Souto, E. B. (2024). Natural antibiotics against antimicrobial resistance: Sources and bioinspired delivery systems. *Brazilian Journal of Microbiology*, 55(3), 2753–2766. <https://doi.org/10.1007/s42770-024-01410-1>
166. Gweyi, J., Osei-Kwarteng, M., & Mahunu, G. (2021). Measurement and maintenance of *Hibiscus sabdariffa* quality (pp. 47–67). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822100-6.00008-2>
https://www.researchgate.net/profile/Joseph-Gweyi-Onyango/publication/352524554_Measurement_and_maintenance_of_Hibiscus_sabdariffa_quality/links/656a06f7b86a1d521b2619e7/Measurement-and-maintenance-of-Hibiscus-sabdariffa-quality.pdf
167. Harshberger, J. W. (1896). Los propósitos de la etnobotánica. <https://doi.org/10.1086/327316>
<https://www.journals.uchicago.edu/doi/epdf/10.1086/327316>
https://springerlink.bibliotecabuap.elogim.com/chapter/10.1007/978-1-4614-6669-7_2
168. Hashemi, M., Erfani, A., & Touranlou, F. (2025). Identification of *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, and *Clostridium perfringens* in hospital food. *Revista Argentina de Microbiología*, 57(1), 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2024.11.005>
169. Hongqing Chen, Qiongying Hu, Tian Wen, Liuling Luo, Lu Liu, Lun Wang, Xiaofei Shen. (2024). Arteannuin B, a sesquiterpene lactone from *Artemisia annua*, attenuates inflammatory response by inhibiting the ubiquitin-conjugating enzyme UBE2D3-mediated NF-κB activation, *Phytomedicine*. ELSEVIER.

- <https://scimedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S0944711323006219>
170. Huang CB, George B, Ebersole JL. (2010). Antimicrobial activity of n-6, n-7 and n-9 fatty acids and their esters for oral microorganisms. Arch Oral Biol. Pub Med. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20541177/>
171. Husain, A., Alam, S., Iram, F., Azhar, M. & Asif, M. (2019). Conocimientos sobre la química y el potencial terapéutico de las furanonas: un farmacóforo versátil. Revista Europea de Química Medicinal, Eur. J. Med. Chem. <https://scimedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S0223523419302387>
172. Hussain, S., Hamid, A., Ahmad, K. S., Mehmood, A., Nawaz, F., & Ahmed, H. (2019). Quantitative ethnopharmacological profiling of medicinal shrubs used by indigenous communities of Rawalakot, District Poonch, Azad Jammu and Kashmir, Pakistan. Rev Bras Farmacogn, 29, 665–676. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.06.008>
173. INSST. (2022). Pseudomonas aeruginosa. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. Gobierno de España. <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/bacterias/pseudomonas-aeruginosa>
174. Islam, M., Ali, E., Uddin, S., Shaw, S., et al. (2018). Fitol: una revisión de las actividades biomédicas. Toxicología alimentaria y química. Science Direct. <https://scimedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S027869151830588X>
175. Jacobus Lee, B., Weyers, M., Kingston, R., & Van der Kooy, F. (2023). Discovery of artemisinin in *Artemisia annua*, its current production, and relevance to sub-Saharan Africa. S Afr J Bot, 153, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.12.017>
176. Jones, M. (2019). History of the combination of gas chromatography and mass spectrometry. Am Chem Soc. <https://www.acs.org/education/whatischemistry/landmarks/gas-chromatography-mass-spectrometry.html>
177. Josabad, Á., Domínguez, F., Maldonado, J., Castillo, L., & Carranza. (2017). Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. J Ethnopharmacol, 198, 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.12.038> <https://scimedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S0378874116311758>
178. Joseph, B. J., Mathew, M., Rachel, R., Mathew, J., & Radhakrishnan, E. K. (2024). *Klebsiella pneumoniae* Virulence Factors and Biofilm Components: Synthesis, Structure, Function, and Inhibitors. En ESKAPE Pathogens (pp. 271–295). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-99-8799-3_9
179. Kaplan, A. & Celikoglu, U. (2020). Evaluation of phytochemical constituents in the whole plant parts of hexane extract of some traditional medicinal plants by gc-ms analysis. Middle East Journal of Science, MEJS. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/1432066>
180. Khelfi, S., Zerizer, S., Bensouici, C. et al. Actividad antioxidante y efecto protector del fruto de *Rosa canina* L. contra la inflamación intestinal inducida por hiperhomocisteinemia en ratones. (2024). Pharm Chem J, Springer Nature Link.

- <https://springerlink.bibliotecaabuap.elogim.com/article/10.1007/s11094-024-03079-0#citeas>
181. Killough, M., Rodgers, A. M., & Ingram, R. J. (2022). *Pseudomonas aeruginosa*: Recent Advances in Vaccine Development. *Vaccines*, 10(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/vaccines10071100>
 182. Klochkov, SG, Neganova, ME, Pukhov, SA *et al.* (2020). Nuevos derivados de arteannuina B y su actividad citotóxica. *Chem Nat Compd.* Springer Nature Link. <https://springerlink.bibliotecaabuap.elogim.com/article/10.1007/s10600-020-03059-2#citeas>
 183. Kong, J., Yang, Y., Wang, W., Cheng, K., & Zhu, P. (2013). Artemisinic acid: A promising molecule potentially suitable for the semi-synthesis of artemisinin. *RSC Advances*, 3(21), 7622–7641. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2013/ra/c3ra40525g/unauth>
 184. Krishnamoorthy, K., & Subramaniam, P. (2014). Phytochemical Profiling of Leaf, Stem, and Tuber Parts of *Solena amplexicaulis* (Lam.) Gandhi Using GC-MS. *International scholarly research notices*. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4897340/>
 185. Kuril, A. K. (2024). Navigating Mass Spectrometry: A Comprehensive Guide to Basic Concepts and Techniques. *International Journal of Scientific Development and Research (IJSDR)*. <https://doi.org/10.2139/ssrn.4879107>
 186. Leow, C. H., Kazi, A., Chuah, C., Xu, Z., Singh, K. K. B., & Leow, C. Y. (2024). Shigellosis: The Road from Multiple Drug-Resistance (MDR) to Vaccine Development. *En Integrated Science for Sustainable Development Goal 3* (pp. 209–237). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-64288-3_10
 187. Leyva, R., Vargas, A., Guzmán, F., & Aparicio, A. (2024). Microencapsulation of *Hibiscus sabdariffa* L. extract using porous starch and gum Arabic: Optimized process, characterization, stability, and simulated gastrointestinal conditions. *Int J Biol Macromol*, 277, 133754. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133754>
 188. Mahesh, P. P., Kolape, J., Sultana, H., & Neelakanta, G. (2025). McFarland Standards-Based Spectrophotometry Method for Calculating Approximate Multiplicity of Infection for an Obligate Intracellular Bacterium *Anaplasma phagocytophilum*. *Microorganisms*, 13(3), 662. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13030662>
 189. Manikandan, G., Ragavi, K. & Gayathri, S. (2021). GC-MS analysis of bioactive compounds and antimicrobial potential of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. *Res. J. Chem. Environ.* https://www.researchgate.net/publication/348742732_GC-MS_analysis_of_bioactive_compounds_and_antimicrobial_potential_of_the_essential_oil_of_Cymbopogon_citratus_DC_Stapf
 190. Mechraoui, O., Imessaoudene, A., Maiz, M. Y., Banouh, H., Mouni, L., Rebiai, A., Belfar, M. L., Elboughdiri, N., Ghernaout, D., & Seghir, B. B. (2021). In vitro antiurolithiatic activity of the leaves and flowers extracts of *Paronychia argentea*, a plant used in traditional medicine in Algeria. *Asian J Chem*, 14(6), 401–411. <https://doi.org/10.52711/0974-4150.2021.00069>
 191. Mekonnen, A. B., Mohammed, A. S., & Tefera, A. K. (2022). Ethnobotanical study of traditional medicinal plants used to treat human and animal diseases in Sedie Muja District, South Gondar, Ethiopia. *Evidence-based Complementary and*

- Alternative Medicine: eCAM, 2022, 7328613.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2022/7328613>
192. Merck KGaA. (2025). 5 Hydroxymethyl 2 furaldehyde (H40807) [Hoja de producto]. Sigma – Aldrich.
<https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/product/aldrich/h40807?srsId=AfmBOoqEAYKbeZIPPkVfimmLGGGMYH3IRLoB7NNZRjV3wew3iFtd90d7>
 193. Monteiro, A. de S. S., Cordeiro, S. M., & Reis, J. N. (2024). Virulence Factors in *Klebsiella pneumoniae*: A Literature Review. *Indian Journal of Microbiology*, 64(2), 389–401. <https://doi.org/10.1007/s12088-024-01247-0>
<https://springerlink.bibliotecabuap.elogim.com/article/10.1007/s12088-024-01247-0>
 194. Montiel, C., Montiel, C., Ortega, A., Pacheco, A., & Bautista, F. (2021). Development and validation of climatic hazard indicators for roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) crop in dryland agriculture. *Ecological Indicators*, 121, 107140. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107140>
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470160X20310797?via%3Dihub>
 195. More, K., Tayade, S., Gawande, P., Manik, S. & Shelke, D. (2022). Antioxidant and antimicrobial potential of *Canavalia gladiata* (Jacq.) DC. leaves and seeds: GC-MS based metabolic profiling. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, IJNPR.
https://www.researchgate.net/publication/362862441_Antioxidant_and_antimicrobial_potential_of_Canavalia_gladiata_Jacq_DC_leaves_and_seeds_GC-MS_based_metabolic_profiling
 196. Mueller, M., & Tainter, C. R. (2023). *Escherichia coli* Infection. En StatPearls. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>
 197. Muhammad, A., Auwal, M., Babando, A., SaboAbdullahi, M., Tajuddeen, N., Ibrahim, H. & Ojo, A. (2015). Composición química y actividad antimicrobiana del extracto de hexano de hojas de *Anisopus mannii* (Asclepiadaceae). *Revista de Etnofarmacología Intercultural*, REI.
https://www.researchgate.net/publication/271722893_Chemical_composition_and_antimicrobial_activity_of_hexane_leaf_extract_of_Anisopus_mannii_Asclepiadaceae
 198. Nahuatt, G. L., Martínez, M. T. S., Ruiz, E. I. J., Morales, R. B., Carrillo, R. E. M., & Ceferino, J. G. (2017). Propiedades antimicrobianas y antioxidantes de jamaica. *Acta Agrícola y Pecuaria*, 3(3), Article 3. <https://aap.uaem.mx/index.php/aap/article/view/42>
<https://aap.uaem.mx/index.php/aap/article/view/42/105>
 199. Nyaberi, M., Onyango, C., Mathooko, F., Maina, J. & Makobe, M. (2017). Profiling active phytochemical compounds of *Ziziphus abyssinica* herb responsible for antioxidant and antimicrobial activity. *Journal of Animal & Plant Sciences*, J. Anim. Plant Sci. <https://m.elewa.org/Journals/wp-content/uploads/2017/10/1.Nyaberi.pdf>
 200. Ontosight. (2025). Trans Pinane properties overview. Ontosight Glossary. <https://ontosight.ai/glossary/term/trans-pinane-properties-overview--67a089846c3593987a4d6d2c>
 201. Organización Mundial de la Salud (OMS). (2018). *E. coli*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>

202. Organización Mundial de la Salud (OMS). (2021). Resistencia a los antimicrobianos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
203. Organización Mundial de la Salud (OMS). (2024). La OMS pone al día la lista de bacterias farmacorresistentes más peligrosas para la salud humana. <https://www.who.int/es/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health>
204. Osman, N., Nafie, M., Kang, H., Hyun, J. & Koh, Y. (2024). Composición química, actividad antimicrobiana y acoplamiento molecular de los principales fitoconstituyentes de tres macroalgas marinas poco investigadas. *Natural Product Communications*. <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1934578X241261016>
205. Pande, K., & Kannan, A. (2025). *Hibiscus sabdariffa* calyx extract induces anti-proliferative and anti-migratory effects in ovarian cancer. *Journal of Food Science and Technology, J. Food Sci. Technol*, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s13197-025-06267-2>
206. Parija, S. C. (2023). *Salmonella* and *Shigella*. En *Textbook of Microbiology and Immunology* (pp. 517–540). Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-19-3315-8_36
207. Pastor, K., Ilić, M., Vujić, D., Ačanski, M., Kravić, S., Stojanović, Z., & Đurović, A. (2023). Gas Chromatography and Mass Spectrometry: The Technique. En *Emerging Food Authentication Methodologies Using GC/MS* (pp. 3–31). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-30288-6_1
208. Peñarrieta, J. M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2014). Phenolic compounds in food. *Revista Boliviana de Química*. 31(2). Universidad Mayor de San Andrés. La Paz, Bolivia. <https://www.redalyc.org/pdf/4263/426339682006.pdf>
209. Pérez, C. (2018). Crecimiento y producción de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) bajo diferentes concentraciones de solución nutritiva en invernadero. <https://repositorio.uaaan.mx/handle/123456789/45257>
210. Pérez, J. G., García, L., Pérez, E., Contreras, E., Aguilar, G. Y., Ángel, C., González, L. G., Baena, E. S., Ocampo, I. O., Guerrero, J. A., & Portillo, L. A. (2025). Plant Antimicrobial Compounds and Their Mechanisms of Action on Spoilage and Pathogenic Bacteria: A Bibliometric Study and Literature Review. *Applied Sciences*, 15(7), 3516. <https://doi.org/10.3390/app15073516>
211. Pierre, K., Thapa, N., Liu, Q., Jibrin, MO, Jones, JB y Zhang, S. (2025). Eficacia del ácido hexanoico para el manejo de la mancha bacteriana en tomate causada por *Xanthomonas perforans*. *Agriculture*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, MDPI. <https://www.mdpi.com/2077-0472/15/7/695>
212. Pill in trip. (2025). Formicina. <https://pillintrip.com/medicine/formicina>
213. Ponnusamy, K., Paul, D., Sam Kim, Y., & Kweon, J. H. (2010). 2(5H)-Furanone: A Prospective strategy for biofouling-control in membrane biofilm bacteria by quorum sensing inhibition. *Brazilian journal of microbiology*, publication of the Brazilian Society for Microbiology. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3768598/#abstract1>
214. Puzari, M., Sharma, M., & Chetia, P. (2018). Aparición de especies de *Shigella* resistentes a los antibióticos: Un motivo de preocupación. *Journal of Infection and*

- Public Health, I, J. Infect. Public Health. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876034117302605>
215. Qi, S., Fan, R., Su, X., Zhang, H., Cui, Y., Qi, B., Chen, X., Wan, Y., & Luo, J. (2025). Membrane technology for sterilization and virus elimination of biopharmaceuticals: Fouling matters. *Advanced Membranes*, 5, Article 100143. <https://doi.org/10.1016/j.advmem.2025.100143>
 216. Quin, W., Ping, M. & Quin, L. (2019). Chemical Composition and Antibacterial Activity of the Essential Oil from Qiancao (*Rubia cordifolia* Linn.) Roots against Selected Foodborne Pathogens. *Asian Journal of Agriculture and Food Sciences*, AJAFS. <https://www.ajouronline.com/index.php/AJAFS/article/view/5876>
 217. Rădulescu, M., Jianu, C., Lukinich-Gruia, AT, Mioc, M., Mioc, A., Șoica, C. y Stana, LG (2021). Composición química, potencial antioxidante in vitro e in silico de *Melissa officinalis* subsp. Aceite esencial officinalis. *Antioxidantes*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, MDPI. <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/7/1081>
 218. Raj, A., & Jhariya, M. K. (2024). Conservation and sustainable uses of medicinal plants phytochemicals. En *Herbal Medicine Phytochemistry*, pp. 1825–1852. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-43199-9_39 https://springerlink.bibliotecaup.edu.pe/doi/10.1007/978-3-031-43199-9_39
 219. Rajčević, N., Bukvički, D., Dodoš, T., & Marin, P. D. (2022). Interactions between natural products. *A Review Metabolites*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/metabo12121256>
 220. Rajkumari, J., Borkotoky, S., Reddy, D., Mohanty, S. K., Kumavath, R., Murali, A., Suchiang, K., & Busi, S. (2019). Anti-quorum sensing and anti-biofilm activity of 5-hydroxymethylfurfural against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: Insights from in vitro, in vivo and in silico studies. *Microbiological research*. *Pub Med*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31284940/>
 221. Ranjbar, R., & Farahani, A. (2019). Shigella: antibiotic-resistance mechanisms and new horizons for treatment. *Infect Drug Resist*, 12, 3137–3167. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6789722/>
 222. Reineccius, G. A., & Qian, M. C. (2024). Gas Chromatography. En *Nielsen's Food Analysis* (pp. 207–230). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-50643-7_14
 223. Reynolds, D., & Kollef, M. (2021). The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections: An Update. *Drugs*, 81(18), 2117–2131. <https://doi.org/10.1007/s40265-021-01635-6>
 224. Rodríguez, B. (2015). Perfil químico de propóleos mexicanos para su aplicación en medicina veterinaria. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de México]. <https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/20.500.14330/TES01000727687/3/0727687.pdf>
 225. Rolta, R., Sharma, A., Anuradha, S., & Mallikarjunan, P. K. (2021). Combination between antibacterial and antifungal antibiotics with phytochemicals of *Artemisia annua* L: A strategy to control drug resistance pathogens. *J Ethnopharmacol*, 266, 113420. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113420>
 226. Romero Cabello, R., Romero Feregrino, R., & Romero Feregrino, R. (2024). Microbiología y parasitología humana: Bases etiológicas de las enfermedades

- infecciosas y parasitarias (5a ed.). Editorial Médica Panamericana. ISBN: 978-607-8546-85-5.
<https://mieurekamedicapnamericana.bibliotecabuap.elogim.com/viewer/microbiologia-y-parasitologia-humana-3/iv>
227. Sait, S., Hamri, S., Boulekbache, L., & Madani, K. (2015). HPLC-UV/DAD and ESI-MSn analysis of flavonoids and antioxidant activity of an Algerian medicinal plant: *Paronychia argentea* Lam. *J Pharm Biomed Anal*, 111, 231–240.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.03.027>
<https://sciencedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S0731708515002046>
228. Salam, Md. A., Al-Amin, Md. Y., Pawar, J. S., Akhter, N., & Lucy, I. B. (2023). Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. *Saudi J Biol Sci.*, 30(3), 103582. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103582>
229. Samyuktha, V., Pauline, C., Ragul, G., & Sivaperumal, P. (2025). Virulence and resistance mechanisms of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: Insights into biofilm formation and cytotoxicity. *The Microbe*, 7, 100371.
<https://doi.org/10.1016/j.microb.2025.100371>
230. Sánchez, E., Buzón, L., Lorenzo, B., Martín, J., & Martín, P. (2021). Physicochemical Characterization and Antimicrobial Activity against *Erwinia amylovora*, *Erwinia vitivora*, and *Diplodia seriata* of a Light Purple *Hibiscus syriacus* L. Cultivar. *Plants* (Basel, Switzerland).
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8468437/>
231. Sánchez, F. (2022). Fitoquímica. Universidad Nacional Autónoma de México.
<https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/2022/Publicaciones/libros/cbiologia/Fitoquimica.pdf>
232. Sánchez, M. A., & Collantes, I. (2021). Actividad antimicrobiana de fracciones obtenidas del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a patógenos orales. *Rev Haban Cienc Méd* [Internet]. <http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v20n4/1729-519X-rhcm-20-04-e3971.pdf>
233. Sathish, R., Anburaj, G., Subramaniano, A., Vasantha, S. & Panneer, A. (2018). Investigación fitoquímica preliminar, actividad antimicrobiana y análisis GC-MS del extracto de hojas de *Capparis zeylanica* Linn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, RJPP.
https://www.researchgate.net/publication/353443319_Preliminary_phytochemical_investigation_Antimicrobial_activity_and_GC-MS_analysis_of_leaf_extract_of_Capparis_zeylanica_Linn
<https://www.phytojournal.com/archives/2019/vol8issue1/PartW/8-1-124-202.pdf>
234. Sato'o, Y. (2024). *Staphylococcus aureus* Pathogenesis Based on Genetic Background. En *Staphylococcus aureus* (pp. 119–150). Springer, Singapore.
https://doi.org/10.1007/978-981-99-9428-1_4
235. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). (2021). Refrescante y nutritivo sabor de la jamaica. gob.mx.
<https://www.gob.mx/agricultura/articulos/refrescante-y-nutritivo-sabor-de-la-jamaica?idiom=es#:~:text=Esta%20flor%20es%20una%20planta,como%20China%2C%20India%20y%20M%C3%A9xico.>
236. Shaghayegh, G., Cooksley, C., Ramezanpour, M., Wormald, P.-J., Psaltis, A. J., & Vreugde, S. (2022). Chronic Rhinosinusitis, *S. aureus* Biofilm and Secreted

- Products, Inflammatory Responses, and Disease Severity. *Biomedicines*, 10(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061362>
237. Shankaranarayana, SH, Gajanana, VK, Chavan, M. *et al.* (2024). Potencial bioactivo de la seda de maíz baby: Evaluación *in vitro* de sus actividades antioxidantes, antimicrobianas, antidiabéticas y antigotosas. *Waste Biomass Valor.* Springer Nature Link. <https://springerlink.bibliotecabuap.elogim.com/article/10.1007/s12649-024-02443-1#citeas>
238. Shatnawi, M., Osman, N., Shibli, R., Odat, N., Tawaha, A. R., Qudah, T., & Majdalawi, M. (2021). Effect of heavy metal on *in vitro* growth of *Paronchia argentea* and its antimicrobial activity. *Ecological Engineering & Environmental Technology*, 22(3), 142–151. <https://doi.org/10.12912/27197050/135655> <http://www.ecoet.com/pdf-135655-63888?filename=Effect%20of%20Heavy%20Metal%20on.pdf>
239. Shyam, R., & Palaniappan, A. (2023). Effect of sterilization techniques on biomaterial inks' properties and 3D bioprinting parameters. *Bioprinting*, 33, e00294. <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2023.e00294>
240. Smolecule Inc. (2024). 3-Metil-2-ciclopenten-1-ona. https://www.smolecule.com/products/s702629#biological_activity
241. Smolecule Inc. (2024). exo-Norborneol. https://www.smolecule.com/products/s1532155#mechanism_of_action
242. Socorro, J. (2022). Las plantas en la ciencia y nuestra vida: inspírate, animate y descúbrelas. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. https://ciatej.mx/files/divulgacion/divulgacion_6329ba4a963b4.pdf
243. Somda, N. S., Nyarkoh, R., Tankoano, A., Bonkoungou, O. J. I., Tetteh-Quarcoo, P. B., & Donkor, E. S. (2025). Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases and carbapenemases-producing *Shigella* in Africa: A systematic review and meta-analysis. *BMC Infectious Diseases*, 25(1), Article 1. <https://doi.org/10.1186/s12879-024-10266-7>
244. Soni, R., Shankar, G., Mukhopadhyay, P., & Gupta, V. (2022). A concise review on *Artemisia annua* L.: A major source of diverse medicinal compounds. *Industrial Crops and Products*, 184, 115072. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115072> <https://sciencedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S0926669022005556>
245. Soporte de Minitab LLC. (2025). Explicación de la prueba de varianzas iguales. En Soporte de Minitab. <https://support.minitab.com/es-mx/minitab/help-and-how-to/statistical-modeling/anova/supporting-topics/basics/understanding-test-for-equal-variances/>
246. Sulieman, A. M. (2022). Antimicrobial activity of *Roselle (Hibiscus sabdariffa* L.) seed oil. *Multiple Biological Activities of Unconventional Seed Oils*, ELSEIVER. https://www.researchgate.net/publication/358207381_Antimicrobial_activity_of_Roselle_Hibiscus_sabdariffa_L_seed_oil

247. Takada, K., Nakano, S., Nishio, R., & Muku, D. (2024). Medicinal herbs, especially *Hibiscus sabdariffa*, inhibit oral pathogenic bacteria. *J Oral Biosci*, 66(1), 179–187. <https://doi.org/10.1016/j.job.2024.01.006>
<https://sciedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S1349007924000069>
248. Taylor, T. A., & Unakal, C. G. (2023). *Staphylococcus aureus* Infection. En StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
249. Teklemariam, A. D., Al-Hindi, R. R., Albiheyri, R. S., Alharbi, M. G., Alghamdi, M. A., Filimban, A. A. R., Al Mutiri, A. S., Al-Alyani, A. M., Alseghayer, M. S., Almaneea, A. M., Albar, A. H., Khormi, M. A., & Bhunia, A. K. (2023). Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. *Foods*, 12(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/foods12091756>
250. Teli, D., Satasia, R., Patel, V., & Nair, R. (2024). Nature meets technology: Harnessing nanotechnology to unleash the power of phytochemicals. *Clinical Traditional Medicine and Pharmacology*, 5(2), 200139. <https://doi.org/10.1016/j.ctmp.2024.200139>
251. Thirapanmethee, K., Kanathum, P., Khuntayaporn, P., Huayhongthong, S., Surassmo, S. & Traidej, M. (2021). Cinnamaldehyde: A plant-derived antimicrobial for overcoming multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection, *European Journal of Integrative Medicine*, *Eur. J. Integr. Med.* <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876382021000949>
252. Tsegay, Z. T., & Mulaw, G. (2025). Antimicrobial Activities and Mode of Action of Bioactive Substances from Vegetable and Fruit Byproducts as a Current Option for Valorization. *Waste and Biomass Valorization*, 16(1), 1–28. <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02587-0>
253. Universidad Abierta y a Distancia de México (UnADM). (2019). Estadística básica. Unidad 3. Correlación y regresión lineal simple [PDF]. https://dmd.unadmexico.mx/contenidos/TRONCO_COMUN/EBA/U3/descargables/EBA_U3_Contenidos.pdf
254. Vambe, M., Aremu, AO, Chukwujekwu, JC, Gruz, J., Luterová, A., Finnie, JF & Van Staden, J. (2020). Propiedades antibacterianas, mutagénicas y caracterización química del arbusto de azúcar (*Protea caffra* Meisn.): una especie de arbusto nativo de Sudáfrica. *Plantas*. <https://www.mdpi.com/2223-7747/9/10/1331#:~:text=1%2DHeptacosanol%2C%20another%20compound%20detected,potent%20antimicrobial%20properties%20%5B46%5D.>
255. Veeraraghavan, V. P., Hussain, S., Balakrishna, J. P., & Mohan, S. K. (2020). *Paronychia Argentea*: A critical comprehensive review on its diverse medicinal potential and future as therapeutics. *Phcog J*, 12(5), 1172–1179. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.165>
<https://phcogj.com/sites/default/files/PharmacognJ-12-5-1172.pdf>
256. Venkatesan, K., Venkatesan, S., & Manivannan, N. (2024). Antibacterial activity of *Hibiscus sabdariffa* (rosella) using methanolic Extract. *J Pharm Bioallied Sci*, 16(Suppl 2), S1191. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_527_23
257. Wacogne, B., Belinger Podevin, M., Vaccari, N., Koubevi, C., Codjiová, C., Gutierrez, E., Davoine, L., Robert-Nicoud, M., Rouleau, A., & Frelet-Barrand, A. (2024). Concentration vs. Optical Density of ESKAPEE Bacteria: A Method to

- Determine the Optimum Measurement Wavelength. *Sensors* (Basel, Switzerland), 24(24), 8160. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11679885/#B6-sensors-24-08160>
258. Webber, D. M., Wallace, M. A., & Burnham, C.-A. D. (2022). 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*, 60(5), e03007-20. <https://doi.org/10.1128/jcm.03007-20>
 259. Wenzler, E., Maximos, M., Asempa, T. E., Biehle, L., Schuetz, A. N., & Hirsch, E. B. (2023). Antimicrobial susceptibility testing: An updated primer for clinicians in the era of antimicrobial resistance: Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy: J Hum Pharmacol Drug Ther*, 43(4), 264–278. <https://doi.org/10.1002/phar.2781>
 260. Wilson, M. G., & Pandey, S. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*. En *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557831/>
 261. Wu, Y., Jiang, X., Zhang, L., & Zhou, Y. (2018). Ultrasonic-Assisted Extraction, Comparative Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of Fresh and Dry Aboveground Parts of *Artemisia annua* L. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(6), 1624–1635. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1574244>
 262. Xiu En Wong, S., Fui Kiew, S., & Sie, S. (2023). Procedures to investigate potential of plants as natural food preservatives: Extraction technology, phytochemical characterization, and antimicrobial bioassays. *Food Chem Adv*, 3, 100435. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100435>
 263. Yao, H., Lin, Q., & Hui, Z. (2023). Bioaccessibility and bioavailability of phytochemicals: Influencing factors, improvements, and evaluations. *Food Hydrocolloids*, 135, 108165. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108165>
<https://sciedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S0268005X22006853>
 264. Yazıcı, A. (2024). Efecto antimicrobiano y antibiofilm dependiente de la cepa del ácido cis y transvaccénico contra *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Cumhuriyet Science*. http://csj.cumhuriyet.edu.tr/en/pub/issue/83858/1341700#article_cite
 265. Yin, L., Gou, Y., Dai, Y., Wang, T., Gu, K., Tang, T., Hussain, S., Huang, X., He, C., Liang, X., Shu, G., Xu, F. y Ouyang, P. (2023). "El cinamaldehído restaura la susceptibilidad a la ceftriaxona contra la *Salmonella* resistente a múltiples fármacos ". *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*, nt. *J. Mol. Sci*. <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/11/9288>
 266. Yu, X., Zhaob, M., Liu, F., Zeng, S. & Hu, J. (2013). Identificación de 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-piran-4-ona como un potente antioxidante en los productos de la reacción de Maillard de glucosa-histidina. *ScienceDirect*. <https://sciedirect.bibliotecabuap.elogim.com/science/article/pii/S0963996913000045>
 267. Zielińska-Błajet, M., & Feder-Kubis, J. (2020). Monoterpenes and Their Derivatives-Recent Development in Biological and Medical Applications. *International journal of molecular Sciences*, *Int. J. Mol. Sci. Pub Med*. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7582973/#:~:text=4.2.,74%20%2C%2075%20%2C%2076%20%5D%20>

Anexos

Anexo 1. Resultados de pruebas bioquímicas para la identificación de las cepas de estudio. Los tubos corresponden a los medios de identificación: TSI (Hierro de Triple Azúcar), LIA (Agar Lisina - Hierro), MIO (Movilidad, Indol, Ornitina), Citrato y Urea. Medio OF (Tipo de metabolismo: Oxidativo-Fermentativo).



Figura 104. Pruebas bioquímicas para la identificación de *Escherichia coli*. Tubo de izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea.



Figura 105. Pruebas bioquímicas para la identificación de *Klebsiella pneumoniae*. Tubo de izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea.

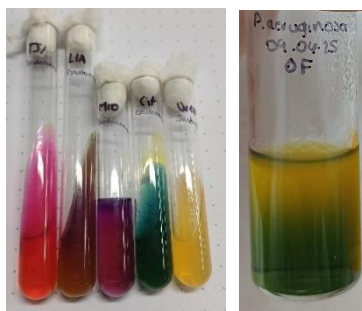


Figura 106. Pruebas bioquímicas para la identificación de *Pseudomonas aeruginosa*. Tubo de izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea. Medio OF: Resultado oxidativo.

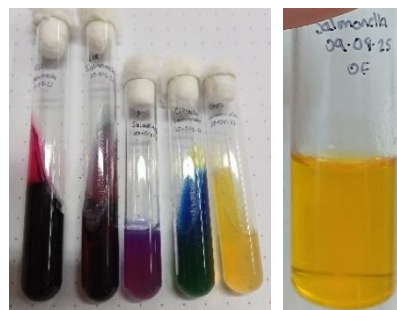


Figura 107. Pruebas bioquímicas para la identificación de *Salmonella* sp. Tubo de izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea. Medio OF: Resultado fermentativo.

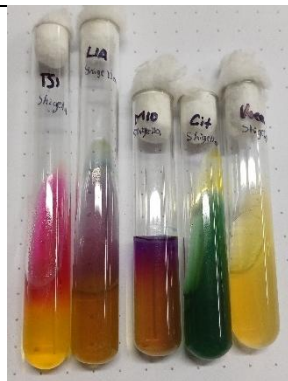


Figura 108. Pruebas bioquímicas para la identificación de *Shigella* sp. Tubo de izquierda a derecha: TSI, LIA, MIO, Citrato y Urea.

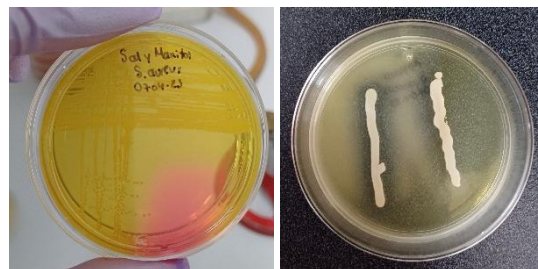


Figura 109. Pruebas de identificación de *Staphylococcus aureus*. Izquierda: Prueba de agar sal y manitol, Derecha: Prueba agar ADasa.

Anexo 2. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos (análisis por triplicado)

Bacteria de estudio: <i>Escherichia coli</i>		
<p>Figura 110. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Escherichia coli</i> como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.</p>	<p>Figura 111. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Escherichia coli</i> como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.</p>	<p>Figura 112. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Escherichia coli</i> como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.</p>
Bacteria de estudio: <i>Klebsiella pneumoniae</i>		
<p>Figura 113. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Klebsiella pneumoniae</i> como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.</p>	<p>Figura 114. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Klebsiella pneumoniae</i> como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.</p>	<p>Figura 115. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando <i>Klebsiella pneumoniae</i> como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.</p>

Bacteria de estudio: *Pseudomonas aeruginosa*

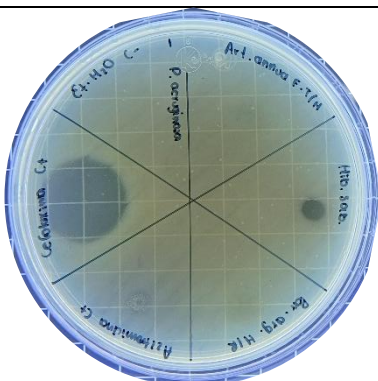


Figura 116. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Pseudomonas aeruginosa* como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.

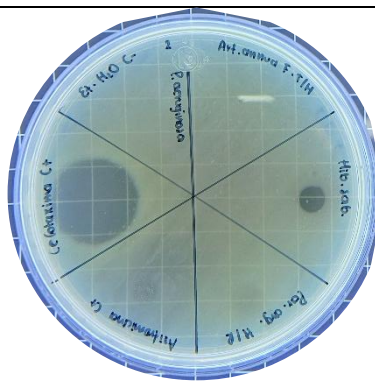


Figura 117. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Pseudomonas aeruginosa* como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.

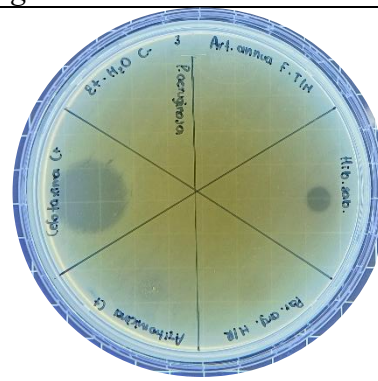


Figura 118. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Pseudomonas aeruginosa* como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.

Bacteria de estudio: *Salmonella* sp.

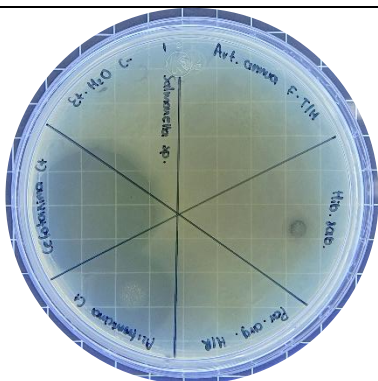


Figura 119. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Salmonella* sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.

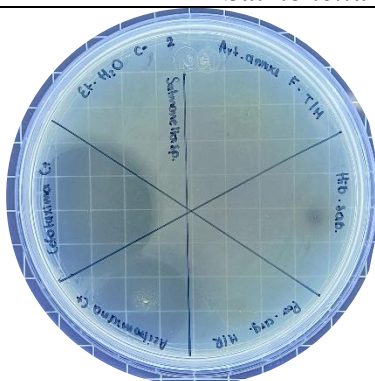


Figura 120. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Salmonella* sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.

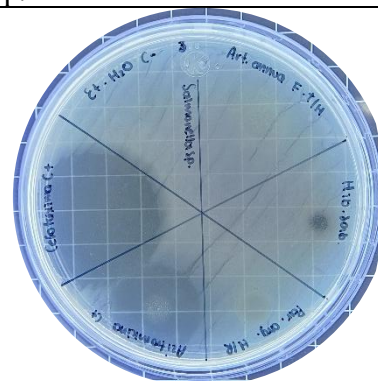


Figura 121. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Salmonella* sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.

Bacteria de estudio: *Shigella* sp.

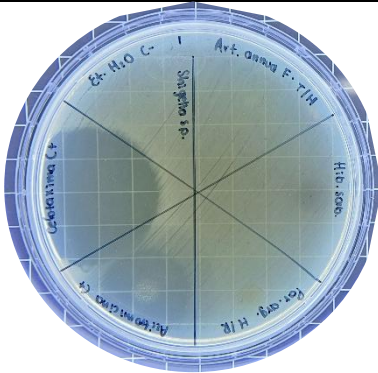


Figura 122. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Shigella* sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.

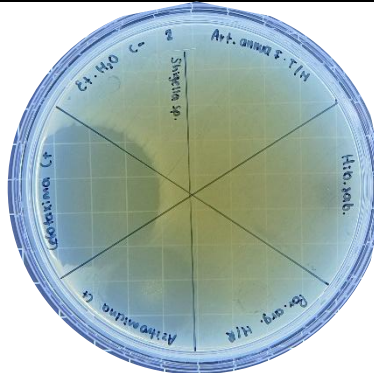


Figura 123. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Shigella* sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.

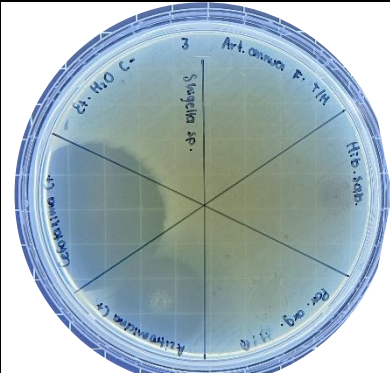


Figura 124. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Shigella* sp. como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.

Bacteria de estudio: *Staphylococcus aureus*

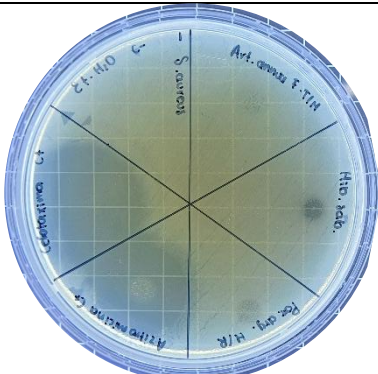


Figura 125. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Staphylococcus aureus* como microorganismo de prueba. Placa Petri 1.

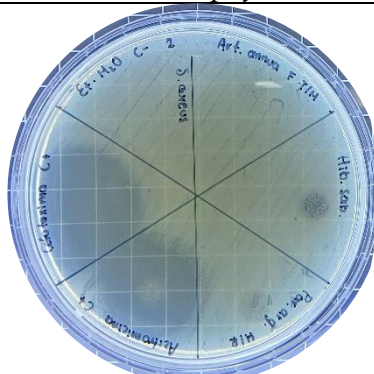


Figura 126. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Staphylococcus aureus* como microorganismo de prueba. Placa Petri 2.

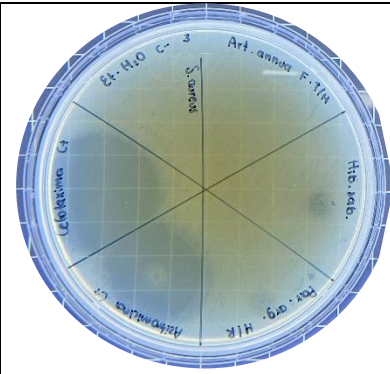


Figura 127. Método de difusión en agar de los extractos hidroetanólicos utilizando *Staphylococcus aureus* como microorganismo de prueba. Placa Petri 3.