



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICA

TÍTULO DE LA TESIS

EFFECTO ANTIMICROBIANO Y ANTIOXIDANTE DEL  
ACEITE ESENCIAL DE LAS PLANTAS *ARTEMISIA*  
*ABSINTHIUM* Y *BUDDLEJA PERFOLIATA*

Tesis que para obtener el título de  
LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:  
YASIEL ALEJANDRA ARELLANO GARCIA

DIRECTORA:  
EDITH CHAVEZ BRAVO



## **Agradecimientos**

Mi sincera gratitud a la Dra. Edith Chávez Bravo por todo su apoyo en este camino de la ciencia y al Centro de Investigación Microbiológica por darme las herramientas necesarias para realizar esta tesis.

A la Dra. Alejandra Conde por ayudarme en la extracción de sustancias requeridas, para la realización de mi tesis e identificación de compuestos de la planta estudiada.

## **Dedicatoria**

Quiero dedicar este mérito a mi familia que siempre ha estado ahí para mí y que cada uno puso un granito de arena para estar en donde estoy ahora. A mis padres, mi tía Leovigilda y tío Jaime por apoyarme siempre para concluir esta etapa de mi vida estudiantil.

## Índice

1. Resumen
2. Introducción
3. Marco teórico
  - 3.1. Problema mundial y nacional ante la resistencia antimicrobiano
  - 3.2. Bacterias patógenas resistentes a antimicrobianos
  - 3.3. Plantas medicinales como una alternativa al uso de antimicrobianos
  - 3.4. *Artemisia absinthium*
    - 3.4.1. Características de la planta *Artemisia absinthium*
    - 3.4.2. Usos medicinales de *Artemisia absinthium*
    - 3.4.3. Sustancias activas
    - 3.4.4. Actividad antioxidante
  - 3.5. *Buddleja perfoliata*
    - 3.5.1. Características de *Buddleja perfoliata*
    - 3.5.2. Sustancias activas
    - 3.5.3. Usos generales y medicinales
4. Hipótesis
5. Objetivo general
  - 5.1. Objetivos específicos
6. Material y Métodos
  - 6.1. Diagrama de flujo
  - 6.2. Recolección de *Artemisia absinthium*
  - 6.3. Extracción de aceite esencial de *Artemisia absinthium*
  - 6.4. Actividad antioxidante de aceites esenciales
  - 6.5. Pruebas de susceptibilidad con aceites esenciales
  - 6.6. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana
7. Resultados y discusión
  - 7.1. Extracción de aceite esencial de *Artemisia absinthium*
  - 7.2. Rendimiento de aceite esencial de *Artemisia absinthium*
  - 7.3. Actividad antioxidante
  - 7.4. Análisis de composición química del aceite esencial *Buddleja perfoliata* y aceite esencial *Artemisia absinthium*

## **7.5. Pruebas de susceptibilidad**

**7.5.1. Aceite esencial *Artemisia absinthium***

**7.5.2. Aceite esencial *Buddleja perfoliata***

**7.5.3. Antibiograma con técnica Bauer-Kirby**

## **8. Conclusiones**

## 1. Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto antimicrobiano y antioxidante del aceite esencial de *Artemisia absinthium* y *Buddleja perfoliata*. Se extrajo el aceite esencial únicamente de *Artemisia absinthium* mediante destilación simple y se compararon las propiedades antioxidantes del aceite esencial de ambas plantas utilizando el método ABTS. Además, se evaluó la capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano de ambos aceites frente a patógenos mediante el método Kirby-Bauer, y se compararon los efectos inhibitorios con los de antimicrobianos comerciales. Los resultados demostraron que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* presentó un destacado efecto antioxidante, superando al antioxidante sintético ABTS, aunque su actividad antimicrobiana fue limitada, mostrando efecto únicamente contra la bacteria *Klebsiella pneumoniae*. Por otro lado, el aceite esencial de *Buddleja perfoliata* exhibió un excelente efecto antimicrobiano, siendo eficaz contra todas las bacterias evaluadas en el estudio. Sin embargo, su actividad antioxidante fue moderada y menor en comparación con el antioxidante sintético ABTS.

En conclusión, los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Buddleja perfoliata* demostraron un potencial significativo en la lucha contra el estrés oxidativo y las infecciones bacterianas. Mientras que *Artemisia absinthium* destacó en propiedades antioxidantes, *Buddleja perfoliata* se presentó como un agente antimicrobiano de amplio espectro, lo que sugiere su posible aplicación en el desarrollo de tratamientos naturales para la prevención de infecciones y el manejo del estrés oxidativo.

## 2. Introducción

El progreso alcanzado en el tratamiento de las infecciones bacterianas con antibióticos redujo de manera considerable la mortalidad por muchas enfermedades infecciosas. Pero hoy en día la situación ha cambiado debido a que pueden llegar a ser un problema de salud global por el aumento de los costos de atención y facilita la generación selectiva de microorganismos multidrogorresistentes (Arias, 2016). De igual manera, existe el problema de contraer esas infecciones con facilidad por medio

del aire, el agua o los alimentos, lo que provoca que la gente se enferme al ingerir o respirar aire o comida contaminados por estos microorganismos. Esto lleva a que las personas infectadas aumenten el consumo de antibióticos, y por ello, con el paso de los años, las bacterias han encontrado la manera de disminuir el efecto de estos medicamentos, creando resistencia. Por lo cual, en la actualidad se buscan nuevas soluciones que ayuden con esta problemática, que sean amigables con el ambiente, de origen natural y menos agresivo incluso con los microorganismos que habitan en nuestro cuerpo y nos ayudan a tener un mejor ambiente en nuestro microbiota intestinal.

El uso de plantas medicinales ha existido desde hace muchos años por la necesidad de encontrar cura o remedios a enfermedades causadas por factores externos, lo difícil ha sido hallar las plantas adecuadas para ayudarnos con esta problemática. Gracias al avance de la ciencia se han investigado propiedades de diferentes recursos vegetales que la humanidad ha empleado para la creación de diferentes productos biotecnológicos que los aprovechan.

En este proyecto se buscará comparar la actividad antimicrobiana entre el aceite esencial de *Artemisia absinthium* y *Buddleja perfoliata* contra bacterias patógenas multirresistentes. Además, se realizarán pruebas para conocer las sustancias activas que contienen y el efecto antioxidante que puedan presentar.

### **3. Marco Teórico**

#### **3.1 Problema mundial y nacional ante la resistencia antimicrobiana**

La resistencia a los antimicrobianos es un problema emergente a nivel global y uno de los mayores desafíos de salud en la actualidad. La incorporación de antibióticos en la práctica clínica, junto con su uso inadecuado, aceleró la aparición de mecanismos de resistencia en bacterias, seguido por virus, parásitos y hongos

(Quiñones, 2017)

De acuerdo con Giono et al (2020), existen tres tipos principales de infecciones relacionadas con la resistencia bacteriana:

- Infecciones causadas por la familia *Enterobacteriaceae*, debido a su significativo impacto en la morbilidad y mortalidad.
- Infecciones por *Acinetobacter spp.* Diversos informes hospitalarios han revelado que las opciones terapéuticas con los antibióticos actuales son limitadas. Incluso los antibióticos desarrollados en los últimos años no muestran efectividad contra cepas resistentes a múltiples fármacos (MDR), extremadamente resistentes (XDR) o resistentes a todos los antibióticos (PDR).
- Otras infecciones graves, como las producidas por *Pseudomonas aeruginosa*, que presentan una alta mortalidad.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) utiliza el lema "ninguna acción hoy, ninguna cura mañana" para resaltar la gravedad de la resistencia a los antimicrobianos. Se estima que, para 2050, la resistencia bacteriana podría causar 10 millones de muertes anuales y reducir entre un 2% y un 5% el producto interno bruto (PIB) en algunos países. Según el informe de riesgos del Foro Económico Mundial de 2013, este problema de salud pública fue considerado tan crítico como la proliferación de armas de destrucción masiva y la crisis económica mundial (WHO, 2011).

En México, los antibióticos se encuentran entre los medicamentos que más se consumen, su uso injustificado o la automedicación provoca resistencia bacteriana, lo que significa una disminución importante en su efectividad para combatir las enfermedades. Tal como menciona Dreser en 2008, se describen brevemente los problemas señalados en la literatura sobre la prescripción, dispensación y consumo

de antibióticos en México:

1. **Prescripción de antibióticos:** La prescripción inadecuada de antibióticos para tratar infecciones respiratorias agudas e infecciones gastrointestinales/diarreicas agudas, la dosificación y la duración del tratamiento eran frecuentemente incorrectas, lo que representaba un alto riesgo para el desarrollo de resistencia bacteriana.
2. **Dispensación y autoatención con antibióticos:** Fue hasta el año 2010 que en México se llegó a un acuerdo que permite implementar lo dispuesto por ley para que únicamente se administren antibióticos cuando sean prescritos mediante receta emitida por los profesionales de la salud autorizados por ley (COFEPRIS, 2017).
3. **Calidad y seguridad de los antibióticos:** La comercialización de productos de baja calidad, falsificados y en combinaciones irracionales (como antibióticos con antidiarreicos o analgésicos). Estos problemas no solo reducen la efectividad del tratamiento, sino que también aumentan el riesgo de reacciones adversas y favorecen el desarrollo de resistencia bacteriana.
4. **Consecuencias del uso inadecuado de antibióticos:** La creciente resistencia bacteriana en patógenos causantes de infecciones comunitarias e intrahospitalarias es quizás el problema relacionado con el uso inapropiado de antibióticos más notificado en la literatura científica en México.

### **3.2 Bacterias patógenas resistentes a antimicrobianos**

Los antibióticos son moléculas derivadas principalmente del metabolismo de bacterias y hongos, aunque también pueden ser compuestos obtenidos por síntesis química, diseñados para inhibir el crecimiento o eliminar microorganismos causantes de infecciones. Estos antibióticos actúan mediante cinco mecanismos que afectan rutas metabólicas esenciales para la supervivencia bacteriana. Entre estos mecanismos se encuentran: (1) la inhibición de la replicación, (2) la interrupción de la

transcripción, (3) la inhibición de la síntesis de proteínas (traducción), (4) la inhibición de la síntesis de peptidoglucano, el componente estructural de la pared celular, y (5) la alteración y/o interrupción de la permeabilidad de la membrana celular. Sin embargo, cuando un antibiótico administrado en dosis normales no logra afectar a los microorganismos, se considera que estos han desarrollado resistencia al agente antimicrobiano (Wright, 2011).

Las bacterias de mayor interés en el área de la salud pública son las que pueden transmitirse de persona a persona e incluyen bacterias resistentes como *Streptococcus pneumoniae* que causa neumonía y es resistente a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, resistentes a meticilina como *Staphylococcus aureus* (SARM), *Enterococcus* resistente a Vancomicina (ERV), bacterias gramnegativas multiresistentes como *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y algunas especies de *Escherichia coli*. (De la Fuente, 2015)

### **3.3 Plantas medicinales como una alternativa al uso de antimicrobianos**

El uso de plantas medicinales es tan antiguo como la humanidad misma. Desde sus inicios, el ser humano ha buscado maneras de preservar y recuperar su salud (Martínez, 2015). El sistema de salud no convencional abarca la medicina complementaria, dentro de la cual la herbolaria medicinal juega un papel fundamental. La herbolaria medicinal se describe como materiales o preparados derivados de una o más plantas, ya sean crudos o procesados, que contienen compuestos con propiedades terapéuticas y otros beneficios para la salud humana. Una gran parte de la población mundial depende de la herbolaria medicinal, tanto en países en desarrollo (80%) como en países desarrollados (Prieto, 2004).

El uso de herbolaria medicinal es esencial en la práctica de la medicina tradicional africana, que fue el principal sistema de atención médica disponible para millones de personas en las comunidades urbanas y rurales de África antes de la llegada de los europeos. Este sistema de salud no convencional aborda el manejo de enfermedades

mediante diversos procesos de consulta con herbolarios, sacerdotes, medios de comunicación y diferentes deidades tradicionales, además del uso de plantas medicinales (Aina, 2020).

Por otro lado, el uso de plantas medicinales en China tiene una aceptación generalizada, especialmente entre la población de 55 minorías étnicas, que asciende a 11.2 millones de personas y representa el 8% de la población del país, distribuyéndose en el 65% del territorio nacional. Cada grupo minoritario posee características medicinales distintivas y una rica diversidad de conocimientos en el uso de plantas medicinales tradicionales. Estas plantas juegan un papel fundamental en la protección de la salud y el bienestar de las personas que habitan en regiones minoritarias, particularmente en áreas remotas y empobrecidas. Las condiciones naturales y las tradiciones únicas de estas zonas han dado lugar a sistemas variados de tratamientos a lo largo del tiempo. Por ejemplo, la medicina tibetana es reconocida por su efectividad en el tratamiento de trastornos digestivos, enfermedades reumáticas y heridas. La medicina mongola, influenciada por su tradición ecuestre, es eficaz en el tratamiento de fracturas óseas y conmociones cerebrales. Por su parte, la medicina Yao destaca por sus ventajas en el tratamiento del cáncer y problemas de la piel (Hong, 2015).

La medicina tradicional mexicana es un conjunto de prácticas de salud basadas en los conocimientos ancestrales de los pueblos indígenas y rurales de México. Tiene sus raíces en una cosmovisión prehispánica sobre la salud y la enfermedad, y a lo largo del tiempo ha incorporado influencias de otras tradiciones médicas, como la española antigua, la africana y, en menor medida, la occidental (Secretaría de Salud del Estado de Puebla, 2021). En las zonas rurales y suburbanas de México, donde el acceso a servicios médicos es limitado o inexistente, las plantas medicinales representan una fuente importante de atención terapéutica. Esta situación se intensifica especialmente en comunidades alejadas de los centros urbanos y cabeceras municipales (Lozoya, 1990). Cabe destacar que muchas de las especies utilizadas por los pobladores crecen de forma silvestre y han sido empleadas tradicionalmente para tratar diversos problemas de salud (Magaña et al., 2010).

### 3.4 *Artemisia absinthium*

#### 3.4.1 Características de la planta *Artemisia absinthium*



*Artemisia absinthium* L., popularmente llamada ajeno, es una planta medicinal perenne de tipo arbustivo que tiene su origen en Asia, el Medio Oriente, Europa y el norte de África. El género *Artemisia* es uno de los más comunes y extensamente distribuidos dentro de la familia *Asteraceae*, e

incluye más de 500 especies que abarcan plantas anuales, perennes y bienales, así como pequeños arbustos (Batiha, 2020). La raíz de *Artemisia absinthium* es perenne con un tallo firme, prolongado, leñoso y frondoso y tiene un sabor cálido y aromático. El tallo mide entre 2 y 2,5 pies de altura, es de color blanco y está casi cubierto de finos pelos sedosos. Las hojas son blancas en ambos lados, de 3 pulgadas de largo y 1,5 de ancho con segmentos delgados y sin forma y los tallos de las hojas están ligeramente alados en el margen y las hojas se reducen a tres, o incluso una subdivisión lineal en los tallos de las flores. La Figura 1 muestra las partes aéreas de *A. absinthium*. La floración tiene lugar desde principios de verano hasta principios de otoño. Las cabezas de las flores son cortas, casi orbiculares y cuelgan en una panícula erecta y frondosa, y las pequeñas flores son colgantes con un color amarillo verdoso. Las hojas y las flores son muy amargas, con un aroma característico, parecido al de la tuyona (Nin, 1995).

### **3.4.2 Usos medicinales de *Artemisia absinthium***

*Artemisia absinthium* es una de las hierbas más importantes que ha exhibido varias actividades farmacológicas, como ser antimicrobiana, antioxidante, insecticida, antiviral, hipoglucemiante, hepatoprotectora, cicatrizante de heridas, antiinflamatoria y contra enfermedades cardiovasculares. (Mohammedi, 2011)

Después de una investigación realizada para este proyecto en la localidad de Tehuacán, Puebla. Las personas que se dedican a la venta de plantas, tienen macetas y/o sembradas en sus respectivas casas, concuerdan que *Artemisia absinthium* o como ellos la conocen “Hierba maestra” crece sin dificultad en esta ciudad del Estado de Puebla. Cabe recalcar que todas tienen origen mestizo debido a que la planta no es originaria de Tehuacán, pero no tiene problema en adaptarse al clima y suelo de la zona.

Las personas que conocían de la planta aseguraban que se usa, en su gran mayoría, para problemas con los jugos biliares y que regularmente las personas enfermas lo consumen a pesar de su sabor amargo característico.

### **3.4.3 Sustancias activas**

Con respecto a sus sustancias activas *A. absinthium* contiene muchos compuestos fitoquímicos, a saber, lactonas, terpenoides (por ejemplo, trans tujona,  $\gamma$ -terpineno, 1,4-terpeniol, mirceno, acetato de bornilo, canfeno de cadineno, acetato de trans-sabinilo, guaiazuleno, camazuleno, alcanfor y linalol), aceites esenciales, ácidos orgánicos, resinas, taninos y fenoles (Omer, 2007). También contiene flavonoides, glucósidos de flavonoides y ácidos fenólicos que contribuyen al mecanismo de eliminación de radicales libres (Kordali, 2005). Además, Ahamad et al. informó que el extracto metanólico de *A. absinthium* contiene glucósidos de isoflavona que se caracterizan como isoflavonil glucosil diéster y bis-isoflavonil dirhamnosida.

La eficacia medicinal del ajenjo a menudo se basa en su ingrediente bioactivo en las

absintinas de guaianólidos diméricos, ya que se usa con mayor eficacia que otras especies de *Artemisia*, ya que contiene aproximadamente un 0,2 % de absenta. Además, el ajeno fresco se considera la mejor fuente de azuleno, ya que produce entre 40 y 70 mg de azuleno (Bhat, 2019).

#### **3.4.4 Actividad antioxidante**

La actividad antioxidante se refiere a la habilidad de ciertos compuestos o mezclas para neutralizar prooxidantes o especies reactivas, incluyendo radicales libres. Existen diversos métodos para medir esta actividad. Entre ellos, los métodos colorimétricos DPPH y ABTS, que utilizan la sal diamónica del ácido 2,2'-difetilpicrilhidrazilo y el 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), son los más comunes y preferidos por su facilidad de uso, el corto tiempo requerido para el análisis y el costo accesible del espectrofotómetro. En ambos métodos, la actividad antioxidante se evalúa observando los cambios en la absorbancia de los radicales artificiales coloreados y estables, como DPPH· o ABTS·+. La reducción del radical coloreado durante la reacción con el antioxidante se mide en longitudes de onda de 515 a 517 nm para el método DPPH y de 734 a 744 nm para el ensayo ABTS. (Olszowy et al, 2018)

### **3.5 *Buddleja perfoliata***

#### **3.5.1 Características de *Buddleja perfoliata***

La *Buddleja perfoliata* HBK es un arbusto de un metro de altura. Tiene muchas ramas y muchos tricomas estrellados, es de color verde-amarillento. Las hojas son lanceoladas, oblongas y aterciopeladas en ambas caras (Figura 2). Las flores son amarillas y tienen un olor agradable. Es originaria de México. Género nativo de los trópicos y subtropicos de Norteamérica y Sudamérica. La *Buddleja perfoliata* HBK se distribuye en su mayoría en los estados de San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo y Puebla. Los nombres populares con los que se conoce son “salvia de bolita” o “salvia real”, sin embargo, en el mercado de Sonora, se identifica mayoritariamente como “salvia de bolita”.



Figura 2. Ilustración de la parte aérea de la planta *Buddleja perfoliata*. Fuente: <https://mexico.inaturalist.org/observations/7372497>

### 3.5.2 Sustancias activas

En 2006 existía información vaga y limitada sobre los tipos y la cantidad de compuesto químicos que se encuentran en esta planta. Pero lo que sí estaba registrado es que esta planta contiene aceite esencial, ácidos tánico, gálico y oxálico (Cortes, 2006).

En estudios realizados en 2016, mostraron principales componentes identificados en el aceite esencial de *Buddleja perfoliata* fueron los terpenos cubenol, eudesmol, germacreno D-4-ol y cis-verbenol. Mientras que, en estudios más recientes, se mostraron compuestos identificados con actividad antimicrobiana en diferentes tipos de extractos (extracto de cloroformo con tallos y flores), subextractos (subextractos de hexano de hojas y flores) y fracciones por cromatografía de gases, y estos pertenecían a transdecalinas, diterpenos, sesquiterpenos, triterpenoides y cetonas (Cuevas, 2022).

### 3.5.3 Usos generales y medicinales

Se reporta que la salvia de bolita se emplea como anti sudorífico, diurético, para

desinfectar heridas, y contra las infecciones gastrointestinales. Otros usos que se reportan son para tratar los mareos, nervios y soplos del corazón (Universidad Nacional Autónoma de México, 2009).

#### **4.Hipótesis**

El aceite esencial de *Artemisia absinthium* y *Buddleja perfoliata* contienen sustancias bioactivas capaces de inhibir bacterias patógenas de interés clínico.

#### **5.Objetivo general:**

- Evaluar el efecto antimicrobiano y antioxidante del aceite esencial de *Artemisia absinthium* y *Buddleja perfoliata* para determinar su potencial como agente natural en la prevención de infecciones bacterianas y el combate del estrés oxidativo.

#### **5.1 Objetivos específicos:**

- Extracción de aceite esencial de *Artemisia absinthium* mediante destilación simple.
- Comparación de propiedades antioxidantes del aceite esencial de *Artemisia absinthium* y de *Buddleja perfoliata*
- Determinación de inhibición de crecimiento de patógenos ante el aceite esencial de *Artemisia absinthium* y de *Buddleja perfoliata*
- Comparación de efectividad inhibitoria de patógenos del aceite esencial de *Artemisia absinthium* y de *Buddleja perfoliata*

#### **6.Material y Métodos**

## 6.1 Diagrama general

A continuación, se realizó un diagrama de flujo (Figura 3) para una mejor visualización del trabajo que se realizó para la investigación:

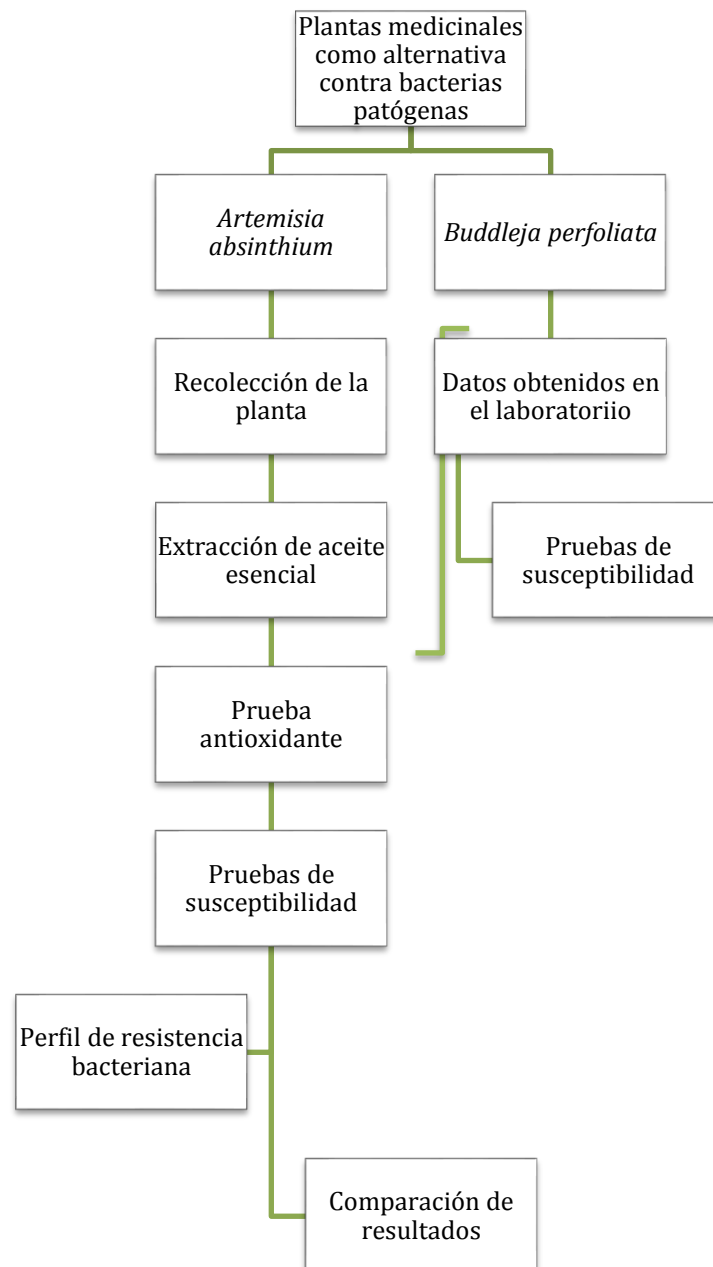


Figura 3. Diagrama de flujo de actividades realizadas para el proyecto de investigación

## 6.2 Recolección de *Artemisia absinthium*

Se recolectaron 5 kg de la especie vegetal *Artemisia absinthium*, provenientes de distintos arbustos cultivados en diversas viviendas en la región de San Lorenzo Teotipílco, conocida por sus manantiales, situada en la ciudad de Tehuacán, Puebla, específicamente entre los meses Octubre – Diciembre del 2022. Los cuales se pusieron a secar en sombra durante 7 días (Figura 4). Posteriormente de la misma planta, se tomó únicamente las partes aéreas debido a que estas contienen mayoritariamente las propiedades características de la planta.



Figura 4. Planta *Artemisia absinthium* después de 7 días de secado en sombra

## 6.3 Extracción de aceite esencial de *Artemisia absinthium*

El aceite esencial de *Buddleja perfoliata* fue obtenido por estudiantes en el Laboratorio de enzimología y biocatálisis en la Facultad de Ingeniería química en el año 2016 y posteriormente fue entregado para su estudio en esta investigación. Con el fin de realizar una mejor comparación, se aplicó el mismo proceso de hidrodestilación utilizado para *Buddleja perfoliata* a la planta de *Artemisia absinthium*.

Para lograr la extracción de aceite esencial de *Artemisia absinthium* se añadieron 50 gramos de las partes aéreas secas de la planta dentro de un matraz de pera con 1 L de agua destilada, se adaptó a un refrigerante y se armó el equipo (Figura 4), posteriormente se calentó el matraz que contenía el agua destilada con la planta hasta el punto de ebullición, se cronometraron 40 minutos cuando el destilado empezó a circular y a cayó la primera gota.

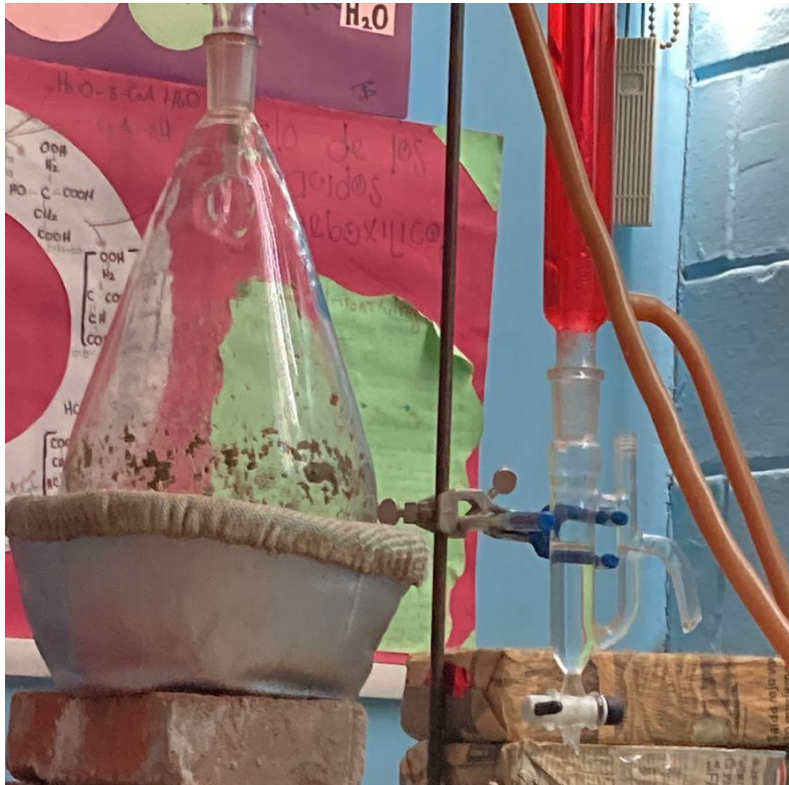


Figura 5. Equipo de hidrodestilación trabajando con la planta y agua dentro.

Como producto del proceso de condensación después de los 40 minutos se obtiene el hidrolato, compuesto de dos fases una de aceite esencial y otra del agua, para realizar una destilación simple decantamos el agua y recolectamos el aceite en un tubo eppendorf (Figura 5) para posteriormente ponerlo en refrigeración a bajas temperaturas y deshacerse de cualquier residuo de agua presente dentro del aceite, por último, se calcula el rendimiento de aceite/planta con ayuda de una balanza analítica y la siguiente formula:

$$\text{Aceite esencial (\%)} = \frac{\text{Aceite esencial (g)}}{\text{Peso del ejemplar (g)}} \times 100$$

Formula 1. El porcentaje de rendimiento de aceite esencial.

Donde para obtenerlo el porcentaje de rendimiento de aceite esencial se obtiene dividiendo el aceite esencial obtenido en gramos, entre los gramos de planta seca que utilizamos al inicio del proceso, el resultado de esto se multiplica por cien.

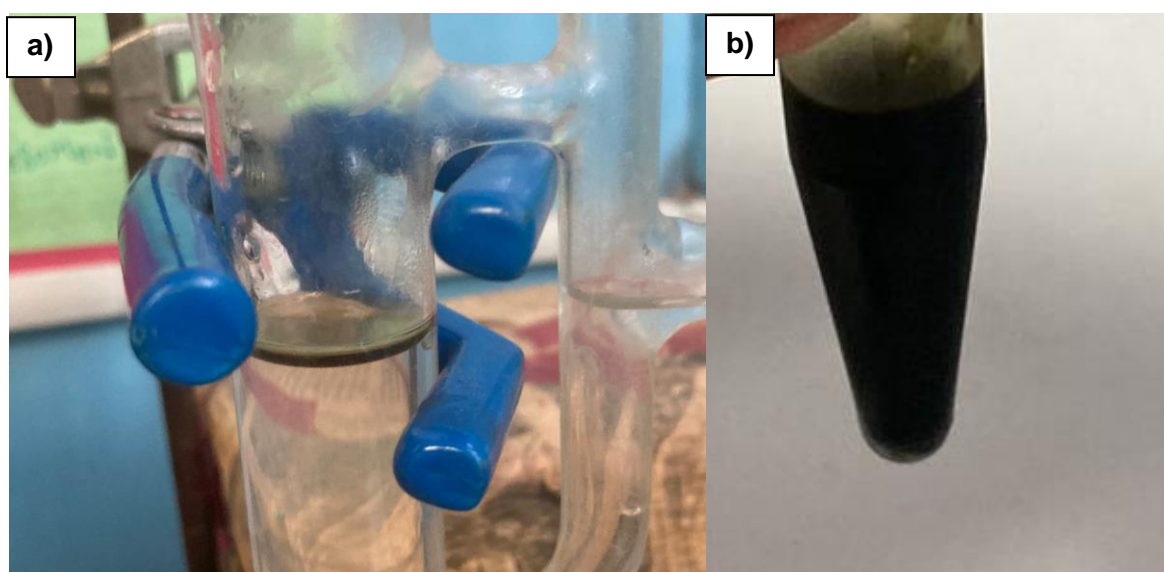


Figura 2. a) Hidrolato obtenido y posteriormente decantado del agua, dando como resultado b) el aceite esencial en el tubo ependorf

Después de la obtención del aceite de *Artemisia absinthium*, se mandaron a analizar ambos aceites esenciales para conocer su composición química

#### 6.4 Actividad antioxidante de aceites esenciales

La actividad antioxidante del aceite de *Artemisia absinthium* se analizó mediante el método ABTS (Sigma-Aldrich, St. Louis, EE. UU.). El radical ABTS se obtuvo haciendo reaccionar 7 mM del ABTS junto con 2,45 mM de persulfato de potasio (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) durante 16 h a temperatura ambiente. Una vez formado el radical ABTS, se diluyó con etanol para obtener una solución ABTS de

radical-etanol con una absorbancia inicial ( $A_i$ ) de  $0,700 \pm 0,020$ , medida a 754 nm. La capacidad antioxidante fue medida colocando 3920  $\mu$ l de la solución ABTS + radical-etanol en una celda del espectrofotómetro de cuarzo, 80  $\mu$ L de aceite esencial disuelto en etanol, se mezcló completamente, se dejó reaccionar durante 7 min y se midió la absorbancia final ( $A_f$ ). La actividad antioxidante se calculó como mg ET mL<sup>-1</sup> de aceite esencial (T) y mg equivalentes a AA mL<sup>-1</sup> de aceite esencial (AA). (Conde,2017)

Para calcular la actividad antioxidante se divide el aceite esencial obtenido en gramos, entre los gramos de planta seca que utilizamos al inicio del proceso, el resultado se multiplica por cien (Fórmula 2).

$$\text{Porcentaje de inhibición (\%)} = \frac{A_i - A_f}{A_i} \times 100$$

Fórmula 2. Porcentaje de inhibición de aceite esencial.

Para las pruebas de susceptibilidad se empleó la técnica de antibiograma descrita por Bauer-Kirby y colaboradores, ya que es uno de los métodos más recomendados para determinar la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Posteriormente, se evaluará también la actividad antimicrobiana del aceite esencial extraído de *Artemisia absinthium*, comparándolo con el aceite esencial de *Buddleja perfoliata*.

Para realizar este método se activaron 5 bacterias Gram (-), 2 bacterias Gram (+) (Tabla 1) y 1 bacteria no patógena como control (*Escherichia coli DH5 $\alpha$* ) que se tenían en resguardo en el laboratorio de patogenicidad microbiana del Centro de Investigación en Ciencias Microbiológicas de la BUAP.

Bacterias Gram (-)	Bacterias Gram (+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli</i> (Enteropatogena)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
<i>Escherichia coli</i> (Enterotóxigenica)	
<i>Shigella flexneri</i>	

Tabla 1. Lista de bacterias Gram (+) y Gram (-) que se activaron para las pruebas de susceptibilidad

Para activar dichas bacterias, se realizó un sembrado por gota en un medio enriquecido donde la bacteria pudiera crecer sin problemas (LB ó BHI dependiendo la bacteria), y se incubaron a 36-37°C de 18 a 24 hrs.

Se aislaron las bacterias con ayuda de la técnica de estría cruzada al día siguiente y de igual manera se incubó a 36-37°C de 18 a 24 hrs. Transcurrido ese tiempo, se seleccionó una colonia aislada y se suspendió en un tubo de precipitados que contenía 3 mL de agua peptonada. La suspensión se agitó hasta ajustar su turbidez al estándar McFarland 0.5, que corresponde aproximadamente a una concentración bacteriana de  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL. Este estándar consiste en una suspensión turbia de sulfato de bario que simula la opacidad de una suspensión bacteriana

Con ayuda de hisopos impregnados de la suspensión estandarizada anteriormente, se inocularon placas de agar Mueller-Hilton de forma masiva.

Para evaluar el efecto de las concentraciones de los extractos, se realizaron diluciones con los aceites esenciales a probar, que son de las plantas *Artemisia absinthium* y *Buddleja perfoliata*. Y se colocan cuidadosamente los sensidiscos impregnados con una concentración dada (Tabla 2) sobre la superficie del agar de las placas estriadas anteriormente, realizándose por triplicado y colocando un sensidisco como control impregnado únicamente con agua. Las concentraciones se realizaron de la siguiente manera:

Diluciones de aceite esencial con agua destilada		
%	Extracto	Agua destilada
100	25 µl	0 µl
80	20 µl	5 µl
60	15 µl	10 µl
40	10 µl	15 µl
20	5 µl	20 µl

Tabla 2. Diluciones de aceite esencial con agua destilada, cada una con su porcentaje respectivo

## 6.6 Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana

Para realizar el antibiograma estándar con antimicrobianos, se usaron multidiscos con 12 antimicrobianos comerciales para bacterias Gram (+) y Gram (-) respectivamente. Posteriormente se incubaron los medios de 18 a 24 horas a temperatura de 36-37°C, una vez pasado el tiempo se midieron los diámetros de los halos de inhibición en milímetros como unidad de medición, tanto para las pruebas con aceites y las pruebas con los antimicrobianos.

## 7.Resultados y discusión

### 7.1 Extracción de aceite esencial de *Artemisia absinthium*

Se realizó el proceso de hidrodestilación por triplicado con la cantidad de planta y agua que se utilizó en cada uno y el resultado de la extracción medido dentro del tubo eppendorf dentro de la balanza analítica (Tabla 3):

Extracción de aceite esencial		
Primero: 50 grs planta seca con 1000 ml de agua	Segundo: 50 grs planta seca con 1500 ml de agua	Tercero: 50 grs planta seca con 1000 ml de agua
• 617.6 mg de aceite esencial	• 389.8 mg de aceite esencial	• 498.1 mg de aceite esencial

Tabla 3. Resultados de extracción de aceite esencial por triplicado, la cantidad de planta (g) y agua (ml) utilizada en cada una y el resultado obtenido de aceite esencial (mg).

En el caso de la segunda extracción se realizó en forma de experimentación para observar si la cantidad de aceite esencial aumentaba o disminuía si la cantidad de agua aumentaba, desafortunadamente este bajo. Con estos resultados, se puede decir que entre más agua utilizamos, menos aceite podemos extraer de la planta *Artemisia absinthium*.

## 7.2 Rendimiento de aceite esencial de *Artemisia absinthium*

Después de la extracción de aceite esencial se calculó el rendimiento con la formula anterior (fórmula 1) para saber si obtuvimos una cantidad generosa de aceite esencial.

Rendimiento		
Primer extracto	Segundo extracto	Tercer extracto
Porcentaje: 1.23%	Porcentaje:0.78%	Porcentaje: 0.99%

Tabla 4. Rendimiento calculado de las tres extracciones que se realizaron, representado en porcentaje como resultado de la Formula 1 anteriormente mencionada.

Con base a artículos relacionados con extracción de aceite esencial y su rendimiento se han reportado diferentes porcentajes de extracción según la muestra utilizada y su origen. En el caso de Marruecos se obtuvo un rendimiento de 0.57% con 250 g de planta en 1600 ml de agua durante 3 h con ayuda de una hidrodestilación (Derwich, 2009). Se obtuvieron entre 0,1 y 1,1% de aceite esencial a partir de material vegetal procedente de diferentes regiones europeas. Se determinaron concentraciones relativamente altas (1,10%-1,46%) a partir de ajeno recolectado en Túnez, pero utilizando 100 gramos de planta. El material vegetal de Cuba contenía 1,25% de aceite esencial, mientras que el de Grecia dio un rendimiento de 0,31%.

### 7.3 Actividad antioxidante de aceite esenciales

Después de realizar el método ABTS por triplicado con el aceite esencial de *Artemisia absinthium* se obtuvieron los siguientes resultados en la Tabla 5:

Prueba antioxidante con el método ABTS				
Intentos	Absorbancia inicial (Ai)	Absorbancia final (Af)	Porcentaje de inhibición (%)	Mg de Trolox/ml
1.	0.720	0.026	96.4%	0.2406
2.	0.716	0.024	96.6%	0.2410
3.	0.696	0.023	96.7%	0.2413

Tabla 5. Resultados derivados de la prueba antioxidante con el método ABTS, los intentos por triplicados, la absorbancia inicial, la absorbancia final, el porcentaje de inhibición obtenido y el cálculo de mg de trolox (antioxidante sintético) sobre ml.

Donde podemos decir que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* fue extremadamente activo en inhibir ABTS,  $96 \pm 0.56\%$  a una dosis de 3920  $\mu$ l de la solución ABTS + radical-etanol.

A continuación, se citan estudios en los que se ha demostrado el potencial antioxidante del aceite esencial de *Artemisia absinthium*. Utilizando el método de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC), se observaron patrones similares de actividad antioxidante en extractos de *Artemisia absinthium* de origen turco, que mostraron una actividad equivalente a  $3.4 \pm 1.4$  mM de Trolox. Estos extractos presentaron una moderada capacidad de eliminación de radicales frente a los radicales ABTS (Altunkaya, 2014). Por otro lado, los resultados presentados por Benkhaled et al. (2020) en el ensayo ABTS mostraron que la actividad antirradical del aceite esencial de *A. absinthium* tenía un IC<sub>50</sub> significativamente mayor en comparación con el IC<sub>50</sub> de Trolox [ $(32.96 \pm 0.71)$  y  $(3.15 \pm 0.02)$   $\mu$ g/mL, respectivamente] ( $P < 0.001$ ), siendo esta planta originaria de Argelia, un país ubicado en África del Norte.

Por lo cual, se puede decir que la planta de *Artemisia absinthium* tiene un excelente efecto antioxidante.

Se investigó la actividad antioxidante de *Buddleja perfoliata*; sin embargo, existe muy

poca información disponible al respecto. Para compararlos, se elaboró una tabla similar con los resultados obtenidos previamente con el aceite esencial de *Artemisia absinthium*, basados en una investigación realizada en el Laboratorio de Enzimología y Biocatálisis de la Facultad de Ingeniería Química. (Hernández, 2019)

Muestra	Absorbancia inicial (Ai)	Absorbancia final (Af)	Porcentaje de inhibición (%)	Mg de Trolox/ml
1.	0.7	1.44	79.4%	0.1968
2.	0.681	0.179	73.7%	0.1821
3.	0.705	0.292	58.6%	0.1430

Tabla 6. Resultados obtenidos en tesis realizada en 2019 por Daniel Hernández de la actividad antioxidante de *Buddleja perfoliata*.

#### 7.4 Análisis de composición química del aceite esencial *Buddleja perfoliata* y aceite esencial *Artemisia absinthium*

Los compuestos identificados más relevantes del aceite esencial de *Buddleja perfoliata* están enlistados en la tabla 7.

En el caso de la planta *Artemisia absinthium*, el mayor componente identificado fue la cetona llamada Tujona debido a que su presencia fue demasiado alta con un 74.39% en todo el aceite esencial.

La Tujona es una cetona monoterpénica volátil de origen vegetal, presente en diversas plantas que se emplean comúnmente para aromatizar alimentos y bebidas. Se han identificado efectos neurotóxicos, genotóxicos y propiedades cancerígenas asociados con las tujones, además de sus efectos antimutagénicos e inmunomoduladores. Algunos de estos efectos controvertidos parecen estar estrechamente relacionados con la dosis administrada. Además, los datos sobre las actividades antidiabéticas y antimicrobianas de las tujones podrían abrir nuevas posibilidades para su uso. (Zámbariné, 2020)

Compuestos químicos del aceite esencial de la planta <i>Buddleja perfoliata</i>	
Compuesto químico	Abundancia (%)
Carvacrol	16.95
Oxido cariofileno	10.87
Cariofileno	9.67
$\beta$ -cimeno	6.85
Epoxido isoaromadendreno	5.97
$\alpha$ -cariofileno	4.92
$\beta$ -eudesmol	4.41

Tabla 7. Compuestos químicos obtenidos del análisis del aceite esencial de *Buddleja perfoliata*

## 7.5 Pruebas de susceptibilidad

### 7.5.1 Aceite esencial de *Artemisia absinthium*

Se determina la inhibición de crecimiento de patógenos ante el aceite esencial de *Artemisia absinthium*.

Después de 18 horas de incubación se leyó el diámetro de las zonas completas de inhibición con una regla. Las zonas de los medios transparentes se midieron en milímetros (mm) sobre el reverso de la placa.

Comparando los diámetros del halo de inhibición con las concentraciones mínimas inhibitorias (CMI), y estableciendo las correspondientes rectas de regresión se han

fijado unos criterios para clasificar las cepas estudiadas. De esta forma se han fijado tres categorías: Sensible (S), Intermedia (I) y Resistentes (R) (Amsterdam, 1996).

Las interpretaciones se realizarán conforme a las normas establecidas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). En general, un diámetro de zona de inhibición entre 30 y 35 mm indica una cepa altamente sensible; no obstante, valores mayores a 16 mm aún se consideran dentro del rango de sensibilidad. Se clasifica como sensibilidad intermedia cuando el diámetro de inhibición se encuentra entre 15.9 y 11 mm, mientras que zonas menores a 11 mm corresponden a cepas resistentes.

En el instructivo de antibiogramas de Gutiérrez en 2021 define cada una de las categorías de la siguiente manera:

- Sensible: Indica que la infección ocasionada por la cepa para la que se ha determinado la CMI o su correspondiente halo de inhibición puede tratarse de forma adecuada empleando las dosis habituales del antimicrobiano.
- Intermedio: Indica que el halo traducido en valores de CMI se aproxima a las concentraciones de antimicrobiano alcanzables en sangre y que puede esperarse eficacia clínica en aquellas localizaciones en que se alcanzan altas concentraciones de antimicrobiano (P. Ej. Orina) o cuando se emplean dosis más elevadas de lo habitual.
- Resistente: Se refiere a aquellos microorganismos que no se inhiben por las concentraciones habitualmente alcanzadas en sangre/tejidos del correspondiente antimicrobiano, o a aquellos microorganismos en los que existen mecanismos de resistencia específicos para el agente estudiado.

En la tabla 8 podemos observar en unidades milimétricas que el AE de *Artemisia absinthium* no tiene gran efectividad como antimicrobiano debido a que los halos de inhibición son demasiado pequeños o simplemente estos no tienen inhibición alguna, por lo cual se pone una (R), refiriéndose a que las bacterias tuvieron una resistencia al aceite esencial al que fueron expuestos. En el caso de la bacteria control *DH5  $\alpha$*  y la bacteria Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa* fueron extremadamente resistentes al aceite esencial debido a que no les hizo efecto alguno y crecieron sin ningún problema.

<b>Artemisia absinthium contra agente microbiano control Gram (-)</b>					
<b>Bacterias</b>	<b>Concentraciones</b>				
	100%	80%	60%	40%	20%
<i>Escherichia coli</i> (DH5 $\alpha$ )	0 mm (R)	0 mm (R)	0 mm(R)	0 mm(R)	0 mm (R)
<b>Artemisia absinthium contra agentes microbianos Gram (-)</b>					
<b>Bacterias</b>	<b>Concentraciones</b>				
	100%	80%	60%	40%	20%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 mm (R)	0 mm (R)	0 mm (R)	0 mm (R)	0 mm (R)
<i>Escherichia coli</i> (Enteropatogena)	6 mm (R)	0 mm (R)	0 mm (R)	0 mm (R)	0 mm (R)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16.7 mm (S)	16.3 mm (S)	14 mm (I)	10.3 mm (R)	7.3 mm (R)
<i>Escherichia coli</i> (Enterotóxigenica)	6.7 mm (R)	6.5 mm (R)	6 mm (R)	0 mm (R)	0 mm (R)
<i>Shigella flexneri</i>	8 mm (R)	7 mm(R)	6.3 mm (R)	4.3 mm(R)	0 mm (R)
<b>Artemisia absinthium contra agentes microbianos gram (+)</b>					
<b>Bacterias</b>	<b>Concentraciones</b>				
	100%	80%	60%	40%	20%
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.6 mm(R)	7.2 mm(R)	7 mm(R)	6 mm(R)	0 mm(R)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6 mm(R)	5.5 mm(R)	0 mm(R)	0 mm(R)	0 mm(R)

Tabla 8. Los resultados de las pruebas de susceptibilidad con el aceite esencial de *Artemisia absinthium* muestran el comportamiento de las bacterias evaluadas. Se calculó el promedio del diámetro de inhibición de tres sensibilizadores por concentración, en milímetros (mm). Se utilizó un código de colores para representar la respuesta bacteriana al aceite esencial: verde para sensibilidad, amarillo para sensibilidad intermedia y rojo para resistencia.

En las demás bacterias se midieron halos muy pequeños alrededor de los sensibilizadores, pero no se toman en consideración porque no es suficiente para considerarlos intermedios con respecto a los antibióticos sintéticos.

Hubo una sola excepción dentro de este grupo de bacterias cuando se expuso al aceite esencial, en este caso fue la bacteria Gram (-) *Klebsiella pneumoniae*, donde se puede tomar en cuenta que, tuvo un efecto antimicrobiano favorable al estar en contacto con el aceite a altas concentraciones que fueron 100% y 80%, considerando que esta bacteria fue sensible en comparación con los antibióticos utilizados en los antibiogramas que se realizaron.

A una concentración al 60% de aceite/agua la reacción que tuvo fue intermedia debido a que, si se obtuvo un halo de inhibición, pero no lo suficientemente grande para considerarlo “sensible”.

Un trabajo realizado por Juteau et al. (2003), demostró que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* de origen francés y croata posee un efecto antimicrobiano contra *Klebsiella pneumoniae* y otras bacterias patógenas. Este efecto fue comparado con el del antibiótico sintético gentamicina, observándose que el aceite esencial presentó una acción antimicrobiana superior.

Los artículos relacionados con el aceite esencial de *Artemisia absinthium* y su actividad antimicrobiana utilizan diferentes métodos para comprobarlo, pero la mayoría usa extractos metanólicos o etanólicos junto con el aceite esencial (Batiha, 2020), pudiendo alterar su conformación o el mismo compuesto alcohólico tuviera acción relevante en contra de las bacterias.

Mathlouthi et al. (2021) demostraron que el uso de aceites esenciales de tres especies de *Artemisia*, a saber, *Artemisia herbaalba*, *Artemisia absinthium* y *Artemisia campestris*, redujo significativamente la formación de biopelículas bacterianas, sin interferir con el crecimiento bacteriano en su estado planctónico. Además, se reportó que los principales compuestos presentes en estos aceites esenciales son el camazuleno, el  $\beta$ -pineno y la  $\alpha$ -tujona. Desafortunadamente en este estudio, no hubo

un efecto en las bacterias que utilizamos con el aceite esencial de *Artemisia absinthium*.

### **7.5.2 Aceite esencial *Buddleja perfoliata***

En la tabla 9 se observa una gran inhibición de crecimiento por parte de las bacterias con el aceite esencial de *Buddleja perfoliata*, debido a que los halos que se produjeron fueron de un tamaño considerable e incluso se puede decir que parecido a los antibióticos de los antibiogramas. Haciendo una mención especial con *Streptococcus pneumoniae*, que fue una de las pruebas con mayor halo de inhibición a comparación de todas las demás.

Existen muy pocos artículos científicos de la planta de *Buddleja perfoliata* que hablen de los efectos que puede tener el aceite esencial o extractos de la planta, pero con efecto antimicrobiano solo uno, en este se realizaron microdiluciones para visualizar la concentración mínima inhibitoria con extractos, subextractos y fracciones en bacterias patógenas gran-negativas como lo son *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa*, y bacterias Gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium abscessus*, dando como resultado un efecto significativo antimicrobiano únicamente con *M.abscessus* (Cuevas, 2022) . El contraste de los resultados se puede atribuir a las diferentes técnicas utilizada para inhibir el crecimiento de las bacterias.

<b><i>Buddleja perfoliata</i> contra agente microbiano control</b>					
<b>Bacterias</b>	<b>Concentraciones</b>				
	100%	80%	60%	40%	20%
<i>Escherichia coli</i> (DH5 $\alpha$ )	20.7 mm (S)	20.3 mm (S)	18.7 mm (S)	14 mm (I)	8 mm (R)
<b><i>Buddleja perfoliata</i> contra agentes microbianos gram negativas</b>					
<b>Bacterias</b>	<b>Concentraciones</b>				
	100%	80%	60%	40%	20%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23.7 mm (S)	21.7 mm (S)	18 mm (S)	14.3 mm (I)	3.3 mm (R)
<i>Escherichia coli</i> (Enteropat6gena)	23.7 mm (S)	21.7 mm (S)	19.7 mm (S)	17.7 mm (S)	10.3 mm (R)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25 mm (S)	17 mm (S)	20 mm (S)	14 mm (I)	11mm (I)
<i>Escherichia coli</i> (Enterot6xigenica)	18 mm (S)	17 mm (S)	16.3 mm (S)	13.3 mm (I)	9.3 mm (R)
<i>Shigella flexneri</i>	22.3 mm (S)	20.7 mm (S)	19.3 mm (S)	15.7 mm (I)	10 mm (R)
<b><i>Buddleja perfoliata</i> contra agentes microbianos gram positivas</b>					
<b>Bacterias</b>	<b>Concentraciones</b>				
	100%	80%	60%	40%	20%
<i>Staphylococcus aureus</i>	22.3 mm (S)	22 mm (S)	21.7 mm (S)	17.3 mm (S)	9.3 mm (R)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	31.6 mm (S)	23.3 mm (S)	13 mm (I)	10.6 mm (R)	8.3 mm (R)

Tabla 9. Los resultados de las pruebas de susceptibilidad con el aceite esencial de *Buddleja perfoliata* muestran el comportamiento de las bacterias evaluadas. Se calcul6 el promedio del di6metro de inhibici6n de tres sensibiliscos por concentraci6n, en mil6metros (mm). Se utiliz6 un c6digo de colores para representar la respuesta bacteriana al aceite esencial: verde para sensibilidad, amarillo para sensibilidad intermedia y rojo para resistencia.

Para una visión más clara de la inhibición o no inhibición que causaron los aceites esenciales se muestran como evidencia las imágenes tomadas durante la medición de los halos en las tablas 10 y 11.

En la tabla 11 podemos apreciar que existen halos de inhibición de un tamaño considerable que nos indica que las bacterias que fueron puestas a prueba realmente fueron susceptibles con respecto al aceite esencial de *Buddleja perfoliata*, dando como resultado una inhibición de crecimiento bacteriano, reaccionando mayoritariamente con la de mayor concentración que es la de 100% debido a que esta no está diluida con agua y la prueba es completamente directa con la bacteria.



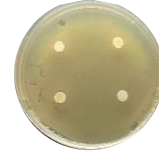
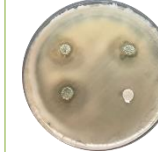

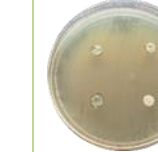

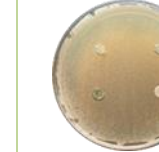
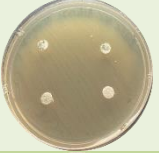

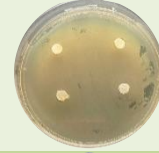

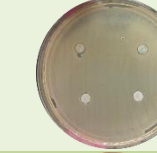
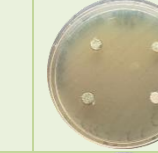

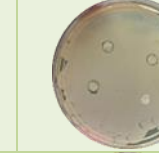
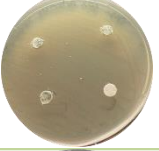

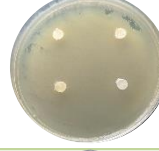
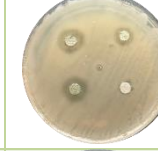

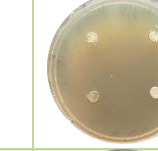


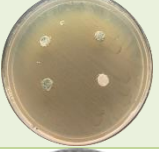
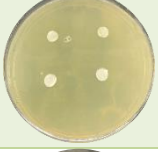


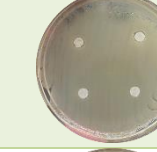





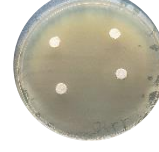





<i>Artemisia absinthium</i>		Bacteria control			Bacterias gram -			Bacterias gram +	
		<i>Escherichia coli</i> (DH5 $\alpha$ )	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enteropatógena)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enterotóxigenica)	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>Concentraciones</b>	100%								
	80%								
	60%								
	40%								
	20%								

Tabla 10. Placas con crecimiento bacteriano, con sensibilizadores impregnados de las diluciones de aceite y agua dentro de las placas, el resultado son halos de inhibición alrededor de los sensibilizadores como pruebas de susceptibilidad con el aceite esencial de la planta *Artemisia absinthium* en imágenes. En caso de no observar algún halo, significa que las bacterias fueron resistentes a este aceite.

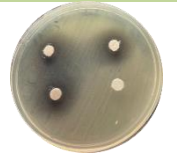
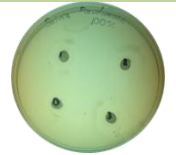


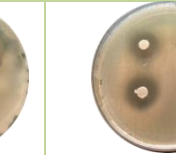
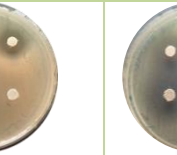
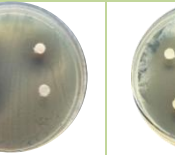
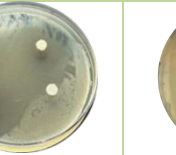
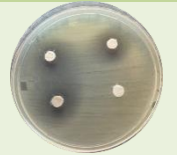



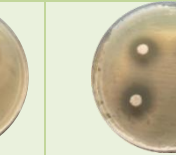

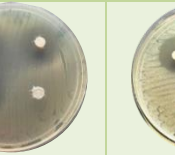







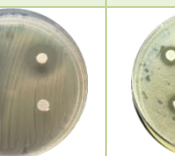






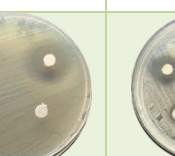









<i>Buddleja perfoliata</i>		Bacteria control	Bacterias Gram (-)					Bacterias Gram (+)	
			<i>Escherichia coli</i> (DH5 $\alpha$ )	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enteropatógena)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enterotóxigenica)	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<b>Concentraciones</b>	100%								
	80%								
	60%								
	40%								
	20%								

Tabla 11.-Resultado de pruebas de susceptibilidad con el aceite esencial de la planta *Buddleja perfoliata* con imágenes, se puede visualizar los halos de inhibición alrededor de los sensidiscos.

Por lo cual podemos decir que la planta *Buddleja perfoliata* tiene mejor efectividad en comparación con *Artemisia absinthium* como antimicrobiano debido a que las bacterias fueron más susceptibles al aceite de la planta de origen mexicano. En las siguientes graficas se puede observar una comparación de la efectividad que tiene cada una de ellas:

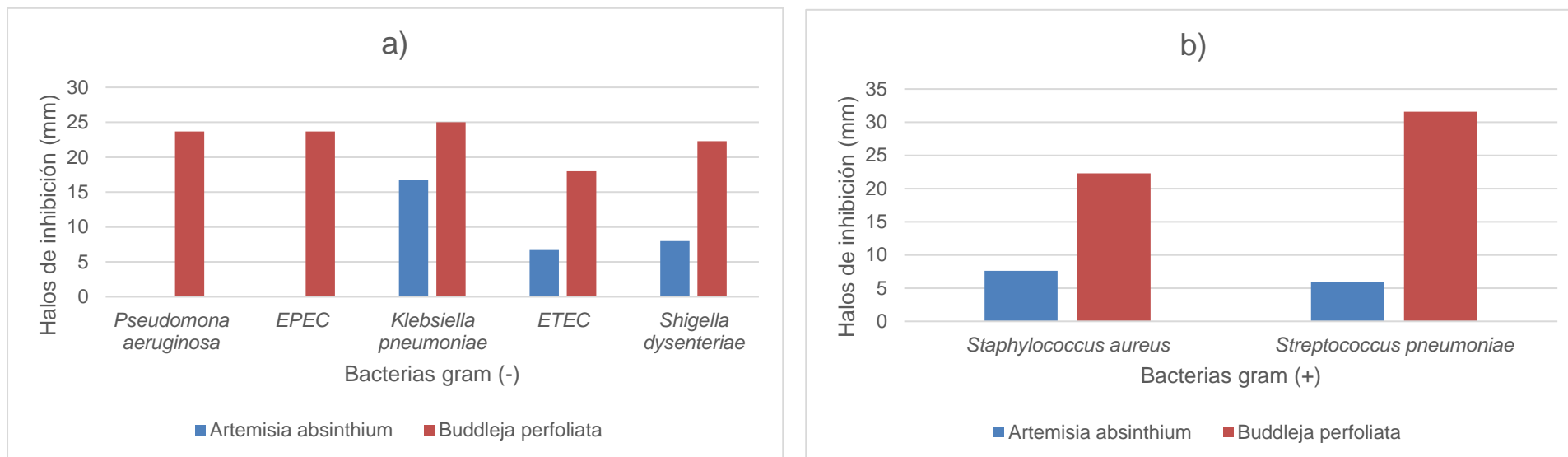


Gráfico 1. a) Un gráfico de comparación de la susceptibilidad que tuvieron ambos aceites (*Artemisia absinthium* y *Buddleja perfoliata*) en las bacterias gram negativas b) Un gráfico de comparación de la susceptibilidad que tuvieron ambos aceites (*Artemisia absinthium* y *Buddleja perfoliata*) en las bacterias gram positivas

En el gráfico 1 se puede observar una diferencial alta debido a que el aceite de *Artemisia absinthium* no tuvo el efecto esperado a comparación de *Buddleja perfoliata* que tuvo efecto en todas las bacterias con las que estuvo interactuando. A pesar de que el aceite esencial de *Artemisia absinthium* tuvo un excelente efecto antimicrobiano con *Klebsiella pneumoniae*, el aceite esencial de la planta *Buddleja perfoliata* demostró tener un efecto mayor en comparación, esto se debe causar a que su composición química es diferente a la del aceite de *Artemisia absinthium*.

### 7.5.3 Antibiograma con técnica Bauer-Kirby

Los resultados de los antibiogramas con antimicrobianos se muestran en la tabla 12, con el nombre del medicamento, la cantidad de medicamento que se encuentra en cada disco y la medición del halo de inhibición que se produjo en cada una de las bacterias.

Agentes microbianos gram negativos						
Medicamento	Contenido del disco	<i>P. aeruginosa</i>	<i>EPEC</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>ETEC</i>	<i>S. flexneri</i>
<b>Amikacina (AK)</b>	30 µg	17 mm	13 mm	16 mm	10 mm	12 mm
<b>Ampicilina (AM)</b>	10 µg	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<b>Carbenicilina (CB)</b>	100 µg	25 mm	22 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<b>Cefalotina (CF)</b>	30 µg	0 mm	19 mm	19 mm	0 mm	22 mm
<b>Cefotaxima (CFX)</b>	30 µg	26 mm	28 mm	28 mm	20 mm	25 mm
<b>Ciprofloxacino (CPF)</b>	5 µg	28 mm	23 mm	25 mm	19 mm	18 mm
<b>Cloranfenicol (CL)</b>	30 µg	20 mm	23 mm	0 mm	0 mm	0 mm
<b>Gentamicina (GE)</b>	10 µg	15 mm	14 mm	16 mm	10 mm	12 mm
<b>Netilmicina (NET)</b>	30 µg	14 mm	15 mm	20 mm	15 mm	14 mm
<b>Nitrofurantoina (NF)</b>	300 µg	0 mm	20 mm	14 mm	0 mm	16 mm
<b>Norfloxacino (NOF)</b>	10 µg	18 mm	18 mm	20 mm	14 mm	17 mm
<b>Sulfametoxazol Trimetropim (SXT)</b>	25 µg	15 mm	16 mm	0 mm	16 mm	0 mm

Tabla 12.-Resultados de antibiogramas con bacterias Gram (-) medidos en milímetros.

Con estos resultados se puede decir que el aceite esencial de *Buddleja perfoliata* llega a ser efectivo contra bacterias patógenas debido a que los resultados que se obtuvieron con los sensibilizadores impregnados son muy parecidos al de los antimicrobianos.

Se ha demostrado que *Klebsiella pneumoniae* es resistente principalmente al antibiótico gentamicina debido a que su mecanismo de resistencia es la transposición de Tn3706, presencia de gen de resistencia a la gentamicina (aac6'-aph2) y bomba de flujo ErmC; producción de biopelícula, activación de la bomba de flujo (Karami, 2023).

En la tabla 13 se encuentran los resultados de antibiogramas con las bacterias Gram (+) y su reacción con antibióticos específicos para esto.

Agentes microbianos Gram positivos			
Medicamento	Contenido del disco	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>
Ampicilina (AM)	10 µg	0 mm (R)	0 mm (R)
Cefalotina (CF)	30 µg	23 mm (S)	17 mm
Cefotaxima (CFX)	30 µg	17.5 mm (S)	11 mm
Ciprofloxacino (CPF)	5 µg	10 mm	12 mm
Clindamicina (CML)	30 µg	5 mm (R)	6 mm (R)
Dicloxacilina (DC)	1 µg	9.5 mm	3 mm (R)
Eritromicina (E)	15 µg	15 mm (S)	13 mm (R)
Gentamicina (GE)	10 µg	0 mm	5 mm (R)
Penicilina (PE)	10 µg	0 mm (R)	0 mm (R)
Tetraciclina (TE)	30 µg	17 mm	8 mm
Sulfametoxazol Trimetropim (SXT)	25 µg	0 mm (R)	0 mm (R)
Vancomicina (VA)	30 µg	12 mm	8 mm (R)

Tabla 13.-Resultados de antibiogramas con bacterias Gram positivas


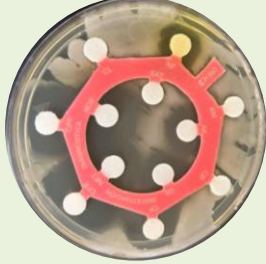



Realizando una comparación entre los resultados numéricos del efecto que tuvo el aceite esencial de *Buddleja perfoliata* y los resultados de los antibiogramas realizados con medicamentos se puede decir que el aceite esencial de la planta *Buddleja perfoliata* es superior por mucho, esto se puede deber a que las bacterias son más susceptibles a los hidrocarburos monoterpénicos o el carvacrol que se encuentra en

su composición química. En el caso de las bacterias Gram positivas, su efecto es muy parecido al de el antibiótico Cefalotina y esa es una buena noticia debido a que este produce una sensibilidad alta contra las bacterias y se puede utilizar como una alternativa natural en un futuro. En el caso de *Streptococcus pneumoniae* el aceite esencial es superior a todos los antibióticos debido a que la medición de los halos fueron resultados mayores en comparación.

Los compuestos químicos como el alcanfor, p-cimeno, cariofileno,  $\alpha$ -pineno y  $\beta$ -pineno pertenecen a la categoría de hidrocarburos monoterpénicos y algunos de estos se encuentran presentes en el aceite esencial de la planta *Buddleja perfoliata*. Los terpenoides actúan a nivel de la membrana celular, y se ha descubierto que alteran tanto las propiedades estructurales como funcionales de las membranas artificiales. Estos compuestos aumentan la permeabilidad de las membranas, provocando su hinchazón y mejorando su fluidez. La inhibición de las enzimas respiratorias produce una alteración parcial en el gradiente de pH y en el potencial eléctrico debido a la mayor permeabilidad a los iones H<sup>+</sup>. Además, se ha investigado el impacto de los terpenoides en la absorción de oxígeno y la fosforilación oxidativa microbiana, encontrándose que la mayoría de los terpenoides probados inhiben ambos procesos (Moslemi, 2012).

Con respecto al carvacrol que también se encuentra en el aceite esencial de *Buddleja perfoliata*, se demostró que causaba la desintegración de la membrana externa de las células *E. coli*, liberando componentes asociados al medio externo. Además, el carvacrol reducía significativamente los niveles de ATP intracelular y aumentaba los niveles de ATP extracelular, lo que sugiere una acción disruptiva en la membrana citoplasmática. (Helander, 1998).

Las fotos de los antibiogramas con antibióticos se muestran en la Tabla 14 para una mejor visualización.

Antibiogramas de bacterias gram negativas		
		
<b><i>Pseudomona aeruginosa</i></b>	<b><i>Klebsiella pneumoniae</i></b>	<b><i>Shigella flexieri</i></b>
		
<b><i>Escherichia coli</i> (Enteropatogena)</b>	<b><i>Escherichia coli</i> (Enterotoxigenica)</b>	



Antibiogramas de bacterias Gram positivas	
	
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b><i>Streptococcus pneumoniae</i></b>

Tabla 14.-Evidencia de antibiogramas con imágenes

## 8.Conclusiones

El presente estudio ha revelado que los aceites esenciales de *Artemisia absinthium* y *Buddleja perfoliata* poseen propiedades antioxidantes y antimicrobianas de interés, aunque con diferencias notables en su desempeño.

En cuanto a la actividad antioxidante, *Artemisia absinthium* mostró un efecto notablemente superior al de otros estudios previos, destacándose por su alta capacidad para neutralizar los radicales libres. Esto resalta el potencial de este aceite

esencial como agente antioxidante natural, lo que podría sugerir aplicaciones potenciales en áreas como la medicina preventiva y la cosmética.

Sin embargo, a pesar de su potente actividad antioxidante, el aceite esencial de *Artemisia absinthium* no mostró un efecto antimicrobiano significativo en las cepas bacterianas evaluadas. Este resultado podría atribuirse a factores como el origen mestizo de la planta, lo cual podría influir en la variabilidad en la composición química del aceite y en su actividad antimicrobiana.

Por otro lado, *Buddleja perfoliata* demostró un efecto antimicrobiano excelente, ya que mostró una gran eficacia frente a las cepas bacterianas estudiadas. Este hallazgo posiciona al aceite esencial de *Buddleja perfoliata* como una opción prometedora para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, con aplicaciones potenciales en el tratamiento de infecciones bacterianas y una alternativa natural.

Aunque ambos aceites esenciales muestran un gran potencial, *Artemisia absinthium* destaca principalmente por sus propiedades antioxidantes, mientras que *Buddleja perfoliata* resalta por su fuerte actividad antimicrobiana.

## Bibliografía

- Ahamad, J.; Naquvi, K.; Ali, M.; Mir, S. Isoflavone glycosides from aerial parts of *Artemisia absinthium*. *Chem. Nat. Comp.* 2014, 49, 996–1000. [Google Scholar] [CrossRef]
- Aina O, Gautam L, Simkhada P, et al. Prevalence, determinants and knowledge about herbal medicine and non-hospital utilisation in southwest Nigeria: a cross-sectional study. *BMJ Open* 2020;10:e040769. doi:10.1136/bmjopen-2020-040769
- Altunkaya, A., Yildirim, B., Ekici, K., & Terzioğlu, Ö. (2014). Determining essential oil composition, antibacterial and antioxidant activity of water wormwood extracts.
- Amsterdam, D. (1996). Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media. *Antibiotics in laboratory medicine*, 4, 52-111.

- Arias-Flores, R., Rosado-Quiab, U., Vargas-Valerio, A., & Grajales-Muñiz, C. (2016). Los microorganismos causantes de infecciones nosocomiales en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Revista Médica del instituto mexicano del seguro social*, 54(1), 20-24.
- Batiha, G. E. S., Olatunde, A., El-Mleeh, A., Hetta, H. F., Al-Rejaie, S., Alghamdi, S., ... & Rivero-Perez, N. (2020). Bioactive compounds, pharmacological actions, and pharmacokinetics of wormwood (*Artemisia absinthium*). *Antibiotics*, 9(6), 353.
- Benkhaled, A., Boudjelal, A., Napoli, E., Baali, F., & Ruberto, G. (2020). Phytochemical profile, antioxidant activity and wound healing properties of *Artemisia absinthium* essential oil. *Asian pacific journal of tropical biomedicine*, 10(11), 496-504.
- Bhat, R.R.; Rehman, M.U.; Shabir, A.; Mir, M.U.R.; Ahmad, A.; Khan, R.; Masoodi, M.H.; Madkhali, H.; Ganaie, M.A. Chemical Composition and Biological Uses of *Artemisia absinthium* (Wormwood). In *Plant and Human Health*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2019; Volume 3, pp. 37–63. [Google Scholar]
- Bruneton J. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants*. France: Lavoisier Publishing Co; 1995. pp. 265–380. [Google Scholar]
- Chopra RN, Nayer SL, Chopra IC. *Glossary of Indian Medicinal Plants*. 3rd ed. New Delhi : Council of Scientific and Industrial Research; 1992. pp. 7–246. [Google Scholar]
- Conde-Hernández, L. A., Espinosa-Victoria, J. R., Trejo, A., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2017). CO<sub>2</sub>-supercritical extraction, hydrodistillation and steam distillation of essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis*). *Journal of food engineering*, 200, 81-86.
- Cuevas-Cianca, S. I., Leal, A. C. L., Hernández, L. R., Arreola, E. S., & Bach, H. (2022). Antimicrobial, toxicity, and anti-inflammatory activities of *Buddleja perfoliata* Kunth. *Phytomedicine Plus*, 2(4), 100357.
- De Áreas Naturales Protegidas, C. N. (s. f.). Valle de Tehuacán-Cuicatlán bien mixto de patrimonio mundial. gob.mx. <https://www.gob.mx/conanp/articulos/valle-de-tehuacan-cuicatlan-bien-mixto-de-patrimonio-mundial>

- De la Fuente-Salcido, Norma Margarita, Villarreal-Prieto, Jesús Ma., Díaz León, Miguel Ángel, & García Pérez, Ada Patricia. (2015). Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 46(2), 7-16.
- Dreser, A., Wirtz, V. J., Corbett, K. K., & Echániz, G. (2008). Uso de antibióticos en México: revisión de problemas y políticas. *Salud pública de México*, 50, S 480-S487.
- Derwich, E., Benziane, Z., & Boukir, A. (2009). Chemical Compositions and Insecticidal Activity of Essential Oils of Three Plants *Artemisia* Sp: *Artemisia Herba-Alba*, *Artemisia Absinthium* and *Artemisia Pontica* (Morocco). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 8(12), 1202–1211.
- Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Rayo Morfín-Otero, M. D., Torres-López, F. J., & Alcántar-Curiel, M. D. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta médica de México*, 156(2), 172-180.
- Gutiérrez Ramos, A. (2021). Investigación diagnóstica: Laboratorio de reactivos para diagnóstico, Multibac-Multidiscos-Antibiogramas. Químicos Mexicanos del Sureste S.A. de C.V. <https://www.quimex.com.mx/wp-content/uploads/2021/01/Multibac-Multidiscos-Antibiogramas.pdf>
- Helander, I. M. (1998) Characterization of the action of essential oil of components on gram-negative bacteria. *Journal of Agriculture and Food Ch.*
- Hernández, D. (2019). Obtención de aceite esencial de salvia (*Buddleja Perfoliata*) mediante el proceso de extracción por arrastre de vapor y evaluación de su actividad antioxidante. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. <https://hdl.handle.net/20.500.12371/4596>
- Hong, L., Guo, Z., Huang, K., Wei, S., Liu, B., Meng, S., & Long, C. (2015). Ethnobotanical study on medicinal plants used by Maonan people in China. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 11, 1-35.
- Juteau, F.; Jerkovic, I.; Masotti, V.; Milos, M.; Mastelic, J.; Bessiere, J.M.; Viano, J. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France. *Planta Med.* 2003, 69, 158–161.
- Karami-Zarandi, M., Rahdar, H. A., Esmaili, H., & Ranjbar, R. (2023). *Klebsiella Pneumoniae*: An Update on Antibiotic Resistance Mechanisms.

Future Microbiology, 18(1), 65–81. <https://doi.org/10.2217/fmb-2022-0097>

- Kordali, S.; Cakir, A.; Mavi, A.; Kilic, H.; Yildirim, A. Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential oils from three Turkish artemisia species. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 1408–1416. [Google Scholar] [CrossRef]
- Lozoya, X. (1990). An overview of the system of traditional medicine currently practised in Mexico. Economic and medicinal plant research, 4, 71-93.
- Magaña Alejandro, M. A., Gama Campillo, L. M., & Mariaca Méndez, R. (2010). El uso de las plantas medicinales en las comunidades Maya-Chontales de Nacajuca, Tabasco, México. Polibotánica, (29), 213-262.
- Márquez A. C., Lara O. F., Esquivel R. B., Mata E. R., Luna A., “Plantas Medicinales de México II. Composición, usos y actividad biológica,” UNAM, México, 1999
- Martínez, A. L. (2015). Herbolaria mexicana para el tratamiento del dolor. Ciencia, julio-sept, 60-68.
- Mathlouthi, A., Saadaoui, N., & Ben-Attia, M. (2021). Essential oils from Artemisia species inhibit biofilm formation and the virulence of Escherichia coli EPEC 2348/69. Biofouling, 37(2), 174-183.
- Mohammedi Z, Atik F. 2011. Impact of solvent extraction type on total polyphenols content and biological activity from Tamarix aphilla L. Karst. Int J Pharm Biol Sci, 2: 609-615
- Moslemi, H.R., Hoseinzadeh, H., Badouei, M.A. et al. Antimicrobial Activity of Artemisia absinthium Against Surgical Wounds Infected by Staphylococcus aureus in a Rat Model. Indian J Microbiol 52, 601–604 (2012). <https://doi.org/10.1007/s12088-012-0283-x>
- Nin, S.; Arfaioli, P.; Bosetto, M. Quantitative determination of some essential oil components of selected Artemisia absinthium plants. J. Essent. Oil Res. 1995, 7, 271–277.
- Olszowy, M., & Dawidowicz, A. L. (2018). Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds?. Chemical Papers, 72, 393-400.
- Omer, B.; Krebs, S.; Omer, H.; Noor, T. Steroid-sparing effect of wormwood (Artemisia absinthium) in Crohn’s disease: A double-blind placebo-controlled

- study. *Phytomedicine* 2007, 14, 87–95. [Google Scholar] [CrossRef]
- Prieto-González, S., Garrido-Garrido, G., González-Lavaut, J. A., & Molina-Torres, J. (2004). Actualidad de la medicina tradicional herbolaria. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 35(1), 19-36.
  - Quiñones Pérez, D. (2017). Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque "Una salud". *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 69(3), 1-17.
  - Secretaría de Salud del Estado de Puebla. (2021). Día Mundial de la Medicina Tradicional [Presentación]. Secretaría de Salud del Estado de Puebla. <https://ss.puebla.gob.mx/images/areas/informate/Medicina%20Tradicional%202021.pdf>
  - Turak, A.; Shi, S.P.; Jiang, Y.; Tu, P.F. Dimeric guaianolides from *Artemisia absinthium*. *Phytochemistry* 2014, 105, 109–114. [Google Scholar] [CrossRef]
  - World Health Organization: WHO. (2011, 7 abril). World Health Day 2011. World Health Organization. <https://www.who.int/news/item/07-04-2011-world-health-day-2011>
  - Wright GD. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Chem Commun (Camb)*. 2011; 47: 4055- 4061
  - Zámboriné Németh, É., Thi Nguyen, H. Thujone, a widely debated volatile compound: What do we know about it?. *Phytochem Rev* 19, 405–423 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09671-y>