

**UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE LAS
AMÉRICAS**

CARRERA DE FARMACIA

**ANÁLISIS COMPARATIVO IN VITRO DE LAS
POSIBLES PROPIEDADES ANTIBACTERIANAS DEL
LILIUM CANDIDUM FRENTE A LA ACTIVIDAD
OBTENIDA DE LA *SALVIA OFFICINALIS* CONTRA
*STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

**TESIS PARA OPTAR POR EL GRADO DE
LICENCIATURA**

NICOLE GARCÍA MORA

TUTOR: ADAM AMEY

SAN JOSÉ, AGOSTO, 2018

Agradecimientos

Le agradezco a Dios, ya que ha sostenido mi mano, me ha dado fuerzas para seguir adelante, ha movido cielo y tierra para poder ver mi sueño cumplido, le doy infinitas gracias por el amor y misericordia que ha mostrado a mi vida cada minuto, toda la gloria le pertenece solo a Él.

A mi madre, ya que ha sido una mujer valiente y esforzada, una mujer que ha luchado para sacar adelante sola a su hija y que hoy queda en evidencia el grandioso trabajo que ha hecho hasta este día, este triunfo es de ambas, te amo mamita, gracias por ser mi pilar, gracias por no dejarme abandonar, gracias por ser la que ha estado a mi lado cada día.

A mi padre, a pesar de que no está a mi lado, se que desde lejos se ha preocupado para poder sacar adelante mi carrera, gracias por todos tus esfuerzos, te amo.

A mi abuela, porque siempre se ha preocupado por mi bienestar, te amo y sé que Dios te devolverá multiplicado cada semilla que sembraste a lo largo de mi vida.

A mi tío Jonathan y tía Sofía por estar pendientes y ayudarme a culminar este largo proceso.

De todo corazón agradezco a mi tutor Adam Amey por estar dispuesto a brindar su tiempo en este proyecto de investigación, Dios te bendiga grandemente.

Gracias a mis amistades, tesoros que Dios ha puesto a lo largo de mi vida universitaria.

A todos; muchas gracias y bendiciones a cada uno.

Dedicatoria

Este triunfo se lo debo a Dios, el cual merece toda la gloria y la honra por su fidelidad y la fuerza que me brindó para culminar este proceso.

A mi madre Ariana Mora, por ser el pilar de mi vida, ya que si he llegado a culminar este proceso ha sido por Dios y su fuerza. Te dedico este trabajo de investigación para que sea reflejo de lo que has logrado con tanto esfuerzo, para que te sientas orgullosa y mires los frutos de tantos procesos difíciles que hemos pasado. Te amo.

A mi tutor Adam Amey, por confiar en mí y dedicar su tiempo para ser parte de este proceso, muchas bendiciones.

Pensamiento

“El orgullo te lleva a creer que eres autosuficiente, la humildad a recordarte que Dios es más que suficiente”

«Porque el que se enaltece será humillado, y el que se humilla será enaltecido»

Mateo 23:12 RVR60

Contenido

Contenido de Figuras.....	9
Contenido de Tablas	14
RESUMEN	15
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	16
Planteamiento del problema	16
Objetivos.....	17
Objetivo general	17
Objetivos específicos.....	18
Justificación.....	18
Antecedentes.....	20
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	26
Microbiología	26
Introducción a la Microbiología	26
Estafilococos.....	27
<i>Staphylococcus aureus</i>	28
Análisis microbiológico del <i>S. aureus</i>	29
Agar sangre.....	29
Agar Baird-Parker	30
Agar manitol salado.....	31
Prueba de catalasa.....	31
Agar Mueller-Hinton.....	32
Resistencia bacteriana	32

Piel.....	33
Características generales	34
Funciones de la piel.....	35
Protección	35
Comunicación.....	35
Sensitiva	35
Flora bacteriana de la piel.....	36
Enfermedades dermatológicas por estafilococos.....	37
Erisipela.....	37
Impétigo.....	38
Forúnculo.....	38
Panadizo	39
Fitofármacos	40
<i>Lilium candidum</i>	40
Clasificación taxonómica	41
Descripción botánica	42
Cultivo.....	43
Composición química.....	44
Alcaloides	45
Flavonoides.....	46
Glucósidos cardíacos	47
Taninos	48
Florotaninos.....	48

Saponinas.....	49
Esteroides	49
Triterpenos.....	50
Usos medicinales	50
<i>Salvia officinalis</i>	51
Clasificación taxonómica	52
Descripción botánica	52
Cultivo	53
Composición química.....	54
Terpenos	54
Flavonoides.....	54
Usos medicinales	55
Métodos de extracción.....	55
Equipo Soxhlet	55
Equipo Dean-Stark	56
Equipo de arrastre por vapor	57
Análisis Espectroscopía Infrarroja	58
Análisis Cromatografía de Gases	60
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	61
Enfoque.....	61
Método.....	61
Fuentes de información	62
Instrumentos	62

Obtención del aceite esencial de <i>Lilium candidum</i>	62
Material y equipo.....	63
Reactivos	64
Pruebas de identificación.....	64
Materiales y equipo	64
Reactivos	64
Preparación de soluciones de <i>Lilium candidum</i> a diferentes concentraciones	65
Materiales y equipo	65
Reactivos	65
Realización de antibiograma	66
Materiales y equipo	66
Reactivos	66
Procedimiento de recolección y análisis de los datos.....	66
Obtención del aceite esencial de <i>Lilium candidum</i>	67
Extracción con equipo Soxhlet.....	67
Extracción con arrastre de vapor	69
Extracción con equipo Dean-Stark.....	70
Pruebas de identificación.....	72
Identificación de flavonoides	73
Identificación de alcaloides	74
Identificación de esteroides	74
Preparación de soluciones de <i>Lilium candidum</i> a diferentes concentraciones	74

Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de <i>Lilium candidum</i> a distintas concentraciones.....	78
CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	80
Obtención del aceite esencial a partir de los pétalos del <i>Lilium candidum</i>	80
Extracción con equipo Soxhlet.....	81
Pruebas líquidas de caracterización del aceite obtenido mediante el equipo Soxhlet	82
Extracción con equipo Dean-Stark	86
Pruebas líquidas de caracterización del aceite obtenido mediante el equipo Dean-Stark	87
Extracción con equipo de arrastre por vapor	90
Caracterización del Aceite Esencial de los Pétalos del <i>Lilium candidum</i> Mediante Cromatografía de Gases Acoplado a Masas.....	92
Análisis del Aceite de Pétalos del <i>Lilium candidum</i> Mediante Espectroscopia Infrarroja.	95
Determinación de la Posible Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de <i>L. candidum</i> sobre el <i>S. aureus</i> Mediante el Método de Difusión en Agar	99
Pruebas microbiológicas.....	99
Prueba de catalasa.....	103
Comparación de la Capacidad Antibacteriana que Presenta el Aceite Esencial de <i>Lilium candidum</i> con los Resultados del Aceite de <i>Salvia officinalis</i>	104
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	111
Conclusiones.....	111
Recomendaciones	112
REFERENCIAS	113
APÉNDICES	127
Fórmula para preparar las soluciones del aceite esencial de <i>Lilium candidum</i>	127

Contenido de Figuras

Figura 1. Científico Anton van Leeuwenhoek.....	27
Figura 2. Tinción de Gram del <i>S.aureus</i>	28
Figura 3. Cultivo de <i>S.aureus</i> en Agar Sangre.....	30
Figura 4. <i>S.aureus</i> en Agar Baird Parker con Telurita de Yema de Huevo al 5%.....	30
Figura 5. Cultivo de <i>S.aureus</i> en Agar Manitol Salado.....	31
Figura 6. Prueba de Catalasa Positiva para Estafilococos.....	31
Figura 7. <i>S.aureus</i> en Agar Mueller-Hinton.....	32
Figura 8. Mecanismos de Resistencia Bacteriana a los Antibióticos.....	33
Figura 9. Organización de la Piel.....	34
Figura 10. Funciones de la Piel.....	36
Figura 11. Erisipela en Adulto.....	37
Figura 12. Impétigo con Típica Costra Amarilla.....	38
Figura 13. Forúnculo.....	39
Figura 14. Infección en el Espacio Pulpar (panadizo).....	39
Figura 15. Hojas de la Planta <i>Lilium candidum</i>	42
Figura 16. Planta de <i>Lilium candidum</i>	43

Figura 17. Estructura Básica de los Flavonoides.....	46
Figura 18. Estructura Química del Kaempferol.....	47
Figura 19. Estructura Química de la Digoxina.....	48
Figura 20. Estructura Básica de los Esteroides.....	49
Figura 21. Estructura del β -sitosterol.....	50
Figura 22. Planta <i>Salvia officinalis</i>	53
Figura 23. Extracción con Equipo Soxhlet.....	56
Figura 24. Método de Extracción Dean-Stark.....	57
Figura 25. Equipo de Arrastre por Vapor.....	58
Figura 26. Ejemplo de Espectro Infrarrojo.....	59
Figura 27. Absorciones IR Características de Grupos Funcionales.....	60
Figura 28. Pesado de los Pétalos de Lirio Blanco.....	68
Figura 29. Equipo Soxhlet Empleado en la Obtención del Extracto.....	68
Figura 30. Equipo de Arrastre por Vapor Empleado en la Extracción.....	70
Figura 31. Equipo Dean-Stark Empleado en la Extracción.....	71
Figura 32. Cámara de Extracción de Gases.....	73
Figura 33. Peso Obtenido de los Aceites Esenciales para la Concentración Madre.....	75

Figura 34. Solución Madre del Aceite Obtenido por el Equipo Dean-Stark y Soxhlet.....	76
Figura 35. Diluciones del Aceite Esencial de <i>Lilium candidum</i>	76
Figura 36. Pétalos de Lirio Blanco Separado para las Extracciones.....	80
Figura 37. Papel Aluminio Alrededor del Balón de Fondo Plano y Calentador.....	81
Figura 38. Extracto Obtenido Mediante Equipo Soxhlet.....	82
Figura 39. Prueba de Cloruro Férrico al 10% con el Extracto Obtenido Mediante el Equipo Soxhlet.....	83
Figura 40. Prueba Blanco de Cloruro de Hierro Realizado con Agua Destilada.....	84
Figura 41. Prueba con Reactivo Dragendorff Realizado al Extracto Obtenido Mediante el Equipo Soxhlet.....	84
Figura 42. Prueba Blanco con Agua Destilada y Reactivo Dragendorff.....	85
Figura 43. Prueba Liebermann-Burchard Realizada al Extracto Obtenido Mediante el Equipo Soxhlet.....	85
Figura 44. Prueba Blanco Liebermann-Burchard con Agua Destilada.....	86
Figura 45. Aceite Esencial Obtenido por el Equipo Dean-Stark.....	87
Figura 46. Prueba Cloruro Férrico al 10% con Aceite Obtenido Empleando el Equipo Dean-Stark.....	88
Figura 47. Prueba con Reactivo Dragendorff al Aceite Extraído Mediante el Equipo Dean-Stark.....	89

Figura 48. Prueba Liebermann-Burchard con el Aceite Extraído Mediante el Equipo Dean-Stark.....	89
Figura 49. Rotavapor con Extracto Obtenido por Arrastre de Vapor.....	90
Figura 50. Aceite de <i>Lilium candidum</i> Obtenido Mediante Arrastre de Vapor.....	91
Figura 51. Caracterización Espectroscópica Mediante Cromatografía de Gases Acoplado a Masas del Aceite Esencial de <i>L.candidum</i> Extraído con el Equipo Dean-Stark.....	92
Figura 52. Resultados Obtenidos Mediante el Análisis por Cromatografía de Gases Acoplado a un Detector de Masas del Aceite Esencial de <i>L.candidum</i> Extraído Mediante el Equipo Dean-Stark.....	93
Figura 53. Caracterización Espectroscópica Mediante Cromatografía de Gases Acoplado a Masas del Extracto de <i>L.candidum</i> Extraído con el Equipo Soxhlet.....	94
Figura 54. Resultados Obtenidos Mediante el Análisis por Cromatografía de Gases Acoplado a un Detector de Masas del Extracto de <i>L.candidum</i> Extraído Mediante el Equipo Soxhlet.....	95
Figura 55. Espectro infrarrojo del Aceite Esencial de <i>L.candidum</i> Extraído Mediante el Equipo Dean-Stark.....	96
Figura 56. Espectro infrarrojo del Extracto de <i>L.candidum</i> Extraído Mediante el Equipo Soxhlet.....	97
Figura 57. Materiales para Preparar Cultivo de <i>S.aureus</i> en la Cámara de Flujo Laminar.....	100
Figura 58. Concentraciones del Aceite de Lirio Blanco Utilizadas para Prueba de Sensibilidad Bacteriana.....	101

Figura 59. Resultado de la Prueba de Sensibilidad Microbiana de <i>S.aureus</i> con Soluciones del Extracto de <i>L.candidum</i> Obtenidas por el Equipo Soxhlet.....	102
Figura 60. Resultado de la Prueba de Sensibilidad Microbiana de <i>S.aureus</i> con Soluciones del Aceite de <i>L.candidum</i> Obtenidas por el Equipo Dean-Stark.....	102
Figura 61. Prueba de Catalasa para cada Cultivo de <i>S.aureus</i>	104
Figura 62. Resultado Negativo del Cultivo con el Aceite de <i>Salvia officinalis</i> a 5mg/mL.....	105
Figura 63. Resultado de la Concentración de 9,5mg/mL del Aceite de <i>S.officinalis</i>	106
Figura 64. Halos de Inhibición Obtenidos a 8,5 mg/mL del Aceite de <i>S.officinalis</i>	108
Figura 65. Resultado de la Prueba de Sensibilidad Microbiana de <i>E.coli</i> con Soluciones del Extracto de <i>L.candidum</i> Obtenidas por el Equipo Soxhlet.....	109
Figura 66. Resultado de la Prueba de Sensibilidad Microbiana de <i>E.coli</i> con Soluciones del Aceite de <i>L.candidum</i> Obtenidas por el Equipo Dean-Stark.....	110

Contenido de Tablas

Tabla 1. Análisis Cualitativo del Extracto de las Flores de <i>Lilium candidum</i>	44
Tabla 2. Volúmenes del Aceite de Pétalos del Lirio Blanco Obtenidos en cada Método de Extracción.....	72
Tabla 3. Valores para Preparar Soluciones del Aceite de <i>Lilium candidum</i>	77
Tabla 4. Descripción y Asignación de las Bandas de Absorción Obtenidas por Espectroscopia Infrarroja del Aceite Esencial de <i>L.candidum</i>	98
Tabla 5. Comparación de los Halos de Inhibición Obtenida de las Soluciones de 5mg/mL y 9,5mg/mL para Ambas Plantas.....	105
Tabla 6. Resultados Obtenidos de los Halos de Inhibición del Aceite de <i>S.officinalis</i> ...	107

RESUMEN

El trabajo de investigación presenta como principal objetivo llenar el vacío que existe actualmente sobre la capacidad antibacteriana que podría presentar el *Lilium candidum*, al ser evaluada frente al *Staphylococcus aureus*. Se sabe que este microorganismo es uno de los que han presentado multirresistencia a los antibióticos.

Por otro lado, se desea comparar la eficacia del *Lilium candidum* frente a la acción antibacteriana presentada por la *Salvia officinalis*, la cual ha sido investigada a profundidad con respecto a su capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano.

Para esta investigación se llevó a cabo la extracción y purificación del aceite esencial de los pétalos de *Lilium candidum* mediante tres métodos de extracción diferentes, para determinar así cuál provee mayor rendimiento. Se realizaron, además, pruebas líquidas de identificación, para determinar los componentes presentes en los pétalos del *L.candidum*, principalmente con el interés de evidenciar la presencia de los flavonoides reportados por la literatura, que han sido extraídos de otras plantas y han demostrado capacidad antibacteriana importante.

Para determinar la capacidad antibacteriana se emplearon antibiogramas con los métodos de extracción que presentaron mayor rendimiento, para realizar distintas concentraciones del aceite esencial del *L. candidum*. Se utilizaron Placas de Petri con medio de difusión en agar nutritivo o Mueller-Hinton.

Se llegó a la conclusión de que la espectroscopia infrarroja y las pruebas líquidas de identificación detectaron la presencia de grupos funcionales correspondientes a los flavonoides reportados por la literatura; sin embargo, no están en una cantidad suficiente para ser detectados por cromatografía de gases ni para inhibir el crecimiento bacteriano del *S. aureus* y *E. coli*. Por ello, se recomienda analizar los beneficios que han sido reportados teóricamente como antifúngico y antioxidante.

Palabras clave: *Lilium candidum*, *Salvia officinalis*, Dean-Stark, Soxhlet, *Staphylococcus aureus*, Flavonoides, Antibiograma

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

La resistencia bacteriana para los tratamientos antibióticos actuales se ha visto en aumento durante los últimos años. Según la Organización Mundial de la Salud [OMS] (2017), esto se considera como un peligro para la prevención y tratamiento de una serie de infecciones que van en aumento, las que son ocasionadas por virus, bacterias, hongos y parásitos. Esto representa una amenaza a la salud pública tanto a nivel nacional como mundial.

Debido a este aumento en la resistencia a los antibióticos, el cual es un tema de preocupación a nivel mundial, se encuentran relacionados aquellos procedimientos hospitalarios considerados agresivos, como cirugías mayores y la quimioterapia. Posterior a estos procedimientos, es fundamental el tratamiento con antibióticos para evitar infecciones intrahospitalarias en los pacientes.

Las infecciones intrahospitalarias representan un alto porcentaje de morbimortalidad en la población, ya que dificulta la pronta recuperación y la calidad de vida, debido a los múltiples procedimientos que requieren; incluso, puede acortar los años de vida llevando a la muerte. Por otro lado, estos tratamientos y procedimientos implican un aumento del costo de la atención sanitaria para el país.

Según Ávalos (2015), alrededor de 5000 bacterias infectan a la población en un año. De las 20 bacterias más prevalentes en Costa Rica, el *Staphylococcus aureus* es el segundo microorganismo más patógeno, con 630 casos de población infectada a nivel de la Caja Costarricense del Seguro Social (CCSS), y cada vez son más las cepas que crean resistencia a los tratamientos estándares de la CCSS conduciendo a medidas más severas.

Bush, Schmidt y Pérez (2018), indican que el *S. aureus* está presente en la nariz en un 30% de la población sana y alrededor de un 20% se encuentra distribuido en la piel. Este porcentaje es mayor en aquellas personas que están en un hospital, ya sea como paciente o

trabajador. Esta bacteria ha producido múltiples cepas que han sido resistentes a los antibióticos, aumentando así la dificultad para erradicar la bacteria y disminuir la infección.

Producto del enfoque que se le ha dado a cierto tipo de plantas, se ha dejado de lado la gran diversidad de flora existente en el mundo. Las plantas cuentan no solo con una actividad, sino que un compuesto activo puede presentar diversos beneficios. Se han reportado múltiples estudios sobre la actividad antibacteriana que presenta la *Salvia officinalis*, en todos los casos con resultados positivos ya sean para actividad bactericida o bacteriostática.

Por otro lado, la *Lilium candidum* es una planta cuyos estudios se han basado en las propiedades ya analizadas y reportadas, como su actividad antioxidante, anticancerígena, antiséptica, callicida y diurético; sin embargo, las propiedades antibacterianas no han sido analizadas directamente de la planta. Dos de los principales flavonoides que presenta esta planta son el kaempferol y la isoramnetina, compuestos analizados de otras plantas, pero no directamente del Lirio Blanco.

Con lo mencionado, surge la principal interrogante de la investigación: ¿Presenta el aceite esencial de *Lilium candidum* mayor potencia antibacteriana contra el *Staphylococcus aureus* que la *Salvia officinalis*?

Para dar respuesta a la pregunta planteada, se llevará a cabo la extracción del aceite esencial del *L.candidum* mediante tres métodos distintos, con la finalidad de determinar el de mayor rendimiento y proceder a realizar pruebas microbiológicas frente al *S.aureus* con distintas concentraciones del aceite obtenido.

Objetivos

Objetivo general

Analizar de forma comparativa las posibles propiedades antibacterianas del *Lilium candidum* frente a la actividad obtenida de la *Salvia officinalis* contra *Staphylococcus aureus*.

Objetivos específicos

Mostrar el método de extracción de mayor rendimiento en la obtención del aceite esencial a partir de los pétalos del *Lilium candidum*.

Evidenciar por medio de cromatografía de gases y espectroscopia infrarrojo la presencia de los principales componentes de *Lilium candidum* reportados en la literatura.

Determinar la capacidad antibacteriana del aceite esencial de *Lilium candidum* sobre el *S. aureus* mediante el método de difusión en agar.

Comparar la capacidad antibacteriana que presenta el aceite esencial de *Lilium candidum* con la mostrada por el aceite de *Salvia officinalis*.

Justificación

Debido al aumento de la resistencia a los antibióticos y, por ende, el incremento en las infecciones por diversos microorganismos, es importante descubrir nuevos tratamientos que permitan brindar el mejor apoyo a los pacientes infectados, sin provocarles mayores daños a su salud. La fitoterapia es uno de los principales elementos con que se cuenta hoy en día para desarrollar nuevos métodos de tratamiento.

Alvarado, Mora, Arias, Rojas y Chaves (2011) afirman que, por el uso irracional de la antibioticoterapia, las cepas del *S. aureus* han desarrollado una alta resistencia a los antibióticos. También se destaca que las principales fuentes de contaminación, por el cual este se considera un agente altamente contagioso e infeccioso, son por medio de agua y de los alimentos.

Enfocado en el bienestar de los pacientes, se pretende mejorar la calidad de vida de las personas, al utilizar un método natural de tratamiento contra aquellas infecciones y problemas de salud que no son erradicadas con la terapia convencional. Esta investigación ayuda a futuros investigadores a tener presente la posible actividad antibacteriana de esta flor. También se pretende determinar si existe o no la necesidad de una mayor inversión para analizar las propiedades de *L. candidum* que no han sido estudiadas.

Al realizar una extracción del aceite de los pétalos del Lirio blanco, se pueden obtener los principales componentes activos que le confieren a la planta sus interesantes beneficios cosméticos y medicinales. Por lo tanto, comenzar una investigación sobre propiedades no estudiadas directamente de la planta, pero sí de sus componentes, ayudaría a la falta de análisis de diversas especies de flora que presentan un gran potencial medicinal.

Pacheco (2013), reconoce la importancia de mantener viva la medicina natural, a pesar de la mala fama que se le ha dado por parte de las nuevas generaciones, como indica el autor “la misma ciencia ha tenido que reconocer la eficacia de la Herbolaria” (p.13). Por esta razón, los métodos de extracción con mayor porcentaje de rendimiento del aceite esencial de una planta deben ser investigados y publicados para contribuir con el estudio de la fitoterapia.

Según menciona la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2018), a través de nuevos principios activos con capacidad antibacteriana, se obtendría una disminución en la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales, utilizados para evitar infecciones posoperatorias e incluso infecciones transmitidas en la comunidad. Esto permitiría disminuir la tasa de mortalidad provocada por las infecciones intrahospitalarias y el costo social que esto implica a las instituciones del país (párr.17).

En Costa Rica las infecciones intrahospitalarias llegan a afectar a un 2% de la población, y este número se espera que continúe en aumento si no se logra controlar los microorganismos de mayor reincidencia. En un análisis realizado por Vigilancia Epidemiológica, publicado por Ugarte (2017), se menciona que las tasas de infección posoperatoria alcanzaron un 2,88% en cirugías abiertas de vesícula, aproximadamente un 2,44% en cesáreas y un 1,29% en cirugías de hernia inguinal.

Los resultados podrían establecer el inicio de investigaciones que tengan como objetivo analizar propiedades no estudiadas en múltiples plantas, incluida la *Lilium candidum*, la cual no presenta estudios sobre su actividad antibacteriana. Con esto se permitiría la introducción de la medicina natural en la Industria Farmacéutica para la elaboración de medicamentos con mayor

eficacia y con menos efectos secundarios, a partir de una planta que ha sido utilizada con mayor relevancia en la cosmética.

Galova et al. (2011), indican que la evidencia experimental sugiere que los extractos de *Salvia officinalis* y *Lilium candidum* poseen una amplia gama de actividades biológicas y medicinales atribuidas a sus propiedades antioxidantes, antimutagénicas y anticancerígenas. Por este motivo, su utilización en la fitocosmética presenta gran auge comercial, ya que no contiene sustancias químicas añadidas que pueden provocar un daño a la piel al utilizarlas.

Los resultados de esta investigación podrían permitir el aprovechamiento de los recursos naturales disponibles del país, contribuyendo en la búsqueda de nuevas formas de tratamiento natural para la prevención y tratamiento de enfermedades provocadas por *Staphylococcus aureus*, bacteria que se encuentra dentro de los primeros lugares de microorganismos patógenos con mayores casos reportados y de difícil erradicación en Costa Rica (Carvajal, et al., 2010, pp-80,90).

Ante la falta de nuevos tratamientos para combatir infecciones bacterianas, una alarmante situación a nivel mundial es el continuo aumento de las bacterias multirresistentes a los antibióticos. Profesionales en la salud han determinado que para el 2050 se estima un total de 10 millones de muertes por año si no se toman medidas urgentes contra esta amenaza. Por esto, es importante que la investigación tome un rumbo a nivel natural para el desarrollo de nuevas moléculas capaces de producir un efecto bactericida con alta potencia (JANO.es, 2016).

Antecedentes

Según Fonnegra y Jiménez (2007), la *Lilium candidum*, conocida popularmente como lirio blanco o azucena, es una planta cultivada desde la antigüedad, procedente de Asia. Esta flor crece de forma nativa en el sur de Europa, presenta un gran hábitat debido a su adaptación en áreas forestales, montañas y pastizales; de igual manera, suelen sobrevivir en suelo pantanoso. Sin embargo, los suelos que les resultan más atractivos para crecer son los ácidos y que sean libres de cal (p.50).

Esta planta pertenece a la familia de las Liliaceae, y el nombre del género *Lilium* proviene del celta Li, el cual significa blanco. Esta planta es, en la mayoría de los países, un símbolo de pureza y belleza, debido a su agradable aroma y la singularidad de sus pétalos, las cuales salen del bulbo en forma de roseta, largas, estrechas y de múltiples colores, a pesar de que las más comunes son las que presentan un color blanco (Fonnegra y Jiménez, 2007, p.50).

El *Staphylococcus aureus*, según Cervantes, García y Salazar (2014), fue descubierta por Alexander Ogston en 1880; desde entonces es considerada una bacteria patógena de gran potencial para producir múltiples infecciones tanto en humanos como en animales. El impacto que han presentado las cepas del *S. aureus* es su gran capacidad para producir una rápida resistencia a los tratamientos antibióticos, donde destaca la meticilina. Esta resistencia ha provocado un incremento en la tasa de la morbilidad y mortalidad (p.28).

Según lo comentado, a nivel internacional se han encontrado múltiples investigaciones sobre los beneficios que presentan la *S. officinalis* y los principales beneficios del *L. candidum*, así como antecedentes sobre el *S. aureus*.

En el 2004, Eisenreichová, Haladová, Mučaji y Grančai, en Bratislava, realizaron una revisión bibliográfica sobre los componentes de las flores y bulbos del género *Lilium*. En el trabajo nombrado “El Estudio de los Constituyentes de *Lilium Candidum* L.”, recopilaron los resultados que obtuvieron distintos investigadores sobre los constituyentes de esta planta, y concluyeron que los principales metabolitos encontrados fueron ácidos orgánicos, flavonoides, glicósidos, compuestos nitrogenados y esteroides (pp.27-32).

Yarmolinsky, Zaccai, Ben-Shabbat, Mills y Huleihel (2009), en Israel, determinaron la actividad antiviral de la *L. candidum* y la *Ficus binjamina*. Los resultados demostraron que la *L. candidum* presenta una alta inhibición sobre el virus de Herpes simplex, pero no se observó ningún efecto sobre el virus de varicela zoster. Concluyeron que la *F. binjamina* resulta más eficaz contra los virus humanos que la *L. candidum*, ya que esta última presenta mayor susceptibilidad a virus de plantas (pp.307, 312).

En el estudio realizado por Miguel et al.(2010), en Portugal, se obtuvo el aceite esencial de las partes aéreas de la planta *Salvia officinalis* para determinar sus propiedades antioxidantes y antibacterianas. Este proyecto fue llamado “Aceites esenciales de *Salvia officinalis* L.: efecto del tiempo de hidrodestilación en la composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana”. En este estudio analizaron las propiedades antibacterianas mediante el método de difusión en agar, el cual dio como resultado una actividad antimicrobiana muy débil (p.526).

Por otro lado, en Slovakia, Kopaskova et al. (2011), evidenciaron la capacidad que presenta el extracto de *Lilium candidum* al disminuir el efecto genotóxico y clastogénico que presenta el antibiótico Zeocina. Los resultados determinaron que la *L.candidum* es eficaz para disminuir sus efectos de una forma significativa, por lo que se concluyó que la potencia de acción depende del diseño experimental y varía la sinergia protectora sobre el ADN. Se menciona también que su eficacia aumenta al administrar el extracto 4 horas antes del antibiótico (pp.80, 93).

En el 2013 Yogendra, Tirpude, Maheshwari, Bansal y Misra, en India, demostraron que los componentes de la *Hippophae rhamnoides*, dentro de los cuales estaban los principales flavonoides de la *L. candidum* (quercetina, kaempferol e isoramnetina), presentaron actividad antibacteriana contra *S.aureus* y otros microorganismos. En este trabajo cada componente fue identificado por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Concluyeron que la planta puede ser usada como alimento, fuente antioxidante y antibacteriana gracias a sus componentes activos (p.1).

En Colombia, López, Castaño y Mejía (2013), realizaron un estudio denominado “Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Salvia officinalis* L. sobre microorganismos patógenos Transmitidos Por Alimento”, donde el aceite extraído se probó sobre la *E. coli*, *L. monocytogene*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. sonnei* y *S. typhimurium*, determinando que la *S. officinalis* ejerce un buen efecto sobre estas bacterias transmitidas por alimentos; además, se concluyó una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 1 a 4 mg/mL (pp. 77, 79, 82).

Con el propósito de determinar la mejor forma de conservación y almacenamiento de la *Salvia officinalis*, Romero, Martínez, Rodríguez, Beryl y Martínez (2015), estudiaron en México las temperaturas a las cuales se conservaban mejor las plantas. A través del trabajo llamado “Cambios en la calidad poscosecha de salvia (*Salvia officinalis*) almacenada bajo condiciones de frigoconservación”, demostraron que a 0°C la vida se prolongaba hasta por 15 días, mientras que a 6°C solo se conservó 9 días (pp. 53, 55, 67).

En España (2016), Laguna, Gómez, Fos, Oltra, Cayuela y Ferrer titularon su investigación “Adiciones a la distribución de *Lilium candidum* L. (Liliaceae) como especie asilvestrada en las provincias de Castellón y Valencia”; en ella se dieron a la tarea de indagar sobre la cantidad de cultivos que había en las regiones de Castellón y Valencia, para determinar qué tan grande se encontraba la vegetación del lirio blanco. Esta se destacó con una notable heterogeneidad ambiental en la que se localiza la planta (pp.112-113).

Gil et al. (2016), en Venezuela, determinaron la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del propóleo de abeja, a través de la investigación “Actividad bacteriostática y bactericida de extractos etanólicos de propóleos venezolanos y europeos sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*”. Los resultados indicaron que presentaba un 1% de capacidad inhibitoria y un 2% bactericida para *S. aureus*; sin embargo, se demostró mayor porcentaje inhibitorio (8%) y bactericida (15%) contra *E. coli*. Este grupo de investigadores llegó a la conclusión de que los extractos venezolanos son equiparables con europeos (pp.4, 9).

La investigación de Rambabu y Patnaik (2016), en India consistió en analizar los efectos antidiabéticos que presentan la *L.candidum* y *C.capitula* en ratas, así como la combinación de ambas, utilizando el equipo Soxhlet para obtener la extracción. Los resultados demostraron que los extractos tienen una capacidad significativa para disminuir la glicemia en sangre, a través de lo cual se concluyó que la combinación de estas plantas presenta el mismo efecto que la glibenclamida, el cual es el tratamiento estándar para la diabetes tipo 2 (pp.1, 4-5).

A nivel nacional no se reportan investigaciones relacionadas con la actividad antibacteriana de *L. candidum*; sin embargo, para la *S. officinalis* existen investigaciones de importancia, así como aspectos relevantes para la investigación, como lo son el medio de cultivo a utilizar y el microorganismo a evaluar.

En Costa Rica, Fayette (2007), para optar por la licenciatura en Ciencias Agrícolas, llevó a cabo la “Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano de extractos vegetales sobre el crecimiento de una bacteria y dos hongos fitopatógenos”. En dicho estudio se utilizó el medio de difusión en agar; el objetivo principal fue encontrar plaguicidas de origen natural, para lo cual se evaluó el crecimiento in vitro de *Xanthomonas axonopodis pv.vesicatoria*, *Phytophthora palmivora* y *Colletotrichum gloeosporioides*. Sin embargo, se llegó a la conclusión de que ninguno de los extractos evaluados inhibió el crecimiento de *P. palmivora* y *C. gloeosporioides* (pp.1, 27).

Por otro lado, Carvajal, et al. (2010), realizaron un estudio llamado “Análisis de hemocultivos obtenidos de pacientes del hospital San Juan de Dios en el periodo de mayo a octubre de 2009”. Para esto se propuso como objetivo describir los aislamientos bacterianos más frecuentes obtenidos y comparar los resultados con los datos reportados en la literatura científica internacional; fue realizado mediante un estudio descriptivo. Los resultados determinaron que el *S. aureus* fue el microorganismo más frecuentemente aislado, y concluyeron que a nivel internacional el más frecuente es *S. epidermidis* (pp.84, 90).

Mientras tanto, Vargas (2016) estudió el efecto antibacteriano del propóleo de abeja contra el *S. aureus*, en su estudio “Análisis de las propiedades antibacterianas de dos preparados farmacéuticos tópicos a partir del extracto de propóleo de abeja”, utilizando agar sangre y manitol salado. Además, demostró que los halos de inhibición de los antibióticos de ciprofloxacino, gentamicina, amikacina y vancomicina eran mayores que los del aceite esencial; por lo tanto, el extracto de propóleo de abeja solo presenta propiedades bacteriostáticas, pero no bactericidas, como sí las presentan los antibióticos estudiados (pp.81, 82, 84).

También Blanco (2017), en la tesis para optar por el grado de licenciatura en Farmacia, la cual tituló “Estudio de la capacidad antibacteriana del aceite esencial de *Salvia officinalis* obtenido por el método de hidrodestilación contra *Staphylococcus aureus*”, determinó la potencia antibacteriana de la *S. officinalis* contra el *S. aureus*, y la comparó frente a antibióticos como la azitromicina, vancomicina, ciprofloxacina y amikacina. Los resultados indicaron que el medicamento que más se asemeja en potencia es la vancomicina; por lo tanto, concluye que *la S. officinales* evidencia una buena capacidad antibacteriana (pp.119, 129).

Otra investigación relacionada con el *Staphylococcus aureus* es la tesis de Rojas (2017), en la que determinó la actividad antibacteriana del *Cymbopogon citratus* (Zacate de limón) contra este microorganismo, en donde extrajo su aceite esencial mediante el equipo Dean-Stark, utilizando hexano como disolvente. Los resultados se determinaron con concentraciones al 1%, 2%, 3% y 4% del aceite esencial extraído, concluyendo que el zacate de limón solo presenta una inhibición intermedia del *S. aureus* (pp.88-90, 98).

Cada antecedente se relaciona de forma directa e indirecta con el propósito del trabajo, ya que permite un amplio conocimiento sobre cada planta que se tomará en cuenta durante la investigación, de manera que es posible conocer las principales características de cada una, así como los principales aportes que se han brindado a nivel nacional e internacional. Además, permite conocer las propiedades que se han estudiado con mayor frecuencia y aportar una nueva propiedad que no ha sido propiamente evaluada, como lo es la actividad antibacteriana del *L.candidum*.

En diferentes universidades nacionales como la Universidad de Iberoamérica (UNIBE), Universidad de Ciencias Médicas (UCIMED), Universidad Latina de Costa Rica y Universidad de Costa Rica (UCR), se realizó una búsqueda relacionada con el tema; sin embargo, no se encontraron estudios ni publicaciones a nivel nacional relacionados directamente con el *Lilium candidum* y, debido a esto, tampoco acerca de su efecto antibacteriano.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

En el presente capítulo se definen los conceptos de mayor importancia que dan el sustento teórico al trabajo de investigación.

Microbiología

Introducción a la Microbiología

Según Carroll et al. (2016), la microbiología se define como el estudio detallado de todos los microorganismos que tienden a reproducirse de diversas maneras, ya sea individual o en grupos, y que no pueden ser observados a simple vista, solamente a través de un microscopio. A pesar de ser considerados organismos indeseables, estos representan una gran importancia en el ecosistema del planeta, llegando inclusive a realizar mayor fotosíntesis que una planta. Además, nuestro cuerpo se constituye de aproximadamente un 90% de organismos microscópicos.

Anton van Leeuwenhoek (Figura 1) es el científico catalogado por dar inicio a la disciplina de la microbiología, como lo indican Lamont, Hajishengallis y Jenkinson (2015), debido a que en 1663 llevó a cabo la observación de los primeros microorganismos, mediante lentes pulidos colocados sobre soportes, a los cuales nombró posteriormente como “microscopio”. Las primeras bacterias vivas analizadas por este científico provinieron de muestras de placa de dientes de él mismo y de un adulto mayor que no presentaba buena higiene bucal (p.3).

Figura 1. Científico Anton Van Leeuwenhoek



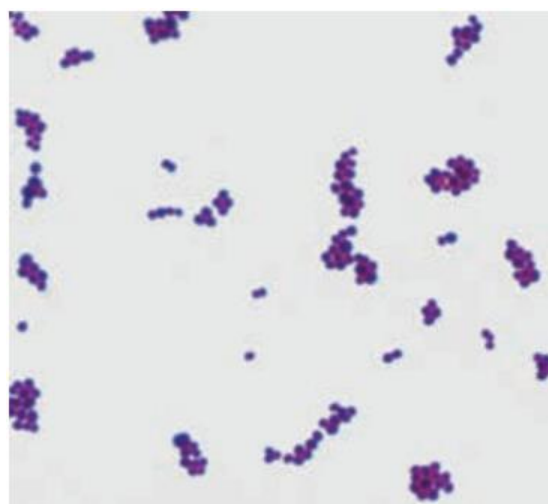
Nota: EcuRed (s.f.)

Los microorganismos tienen la capacidad de desarrollar enfermedades en el ser humano que inducen un deterioro en la calidad de vida; por esto, a pesar de ser parte importante en el ecosistema, también representan un gran peligro para la vida humana y animal. Sin embargo, es importante recalcar que no todos los microorganismos tienen el mismo potencial infeccioso para desarrollar una enfermedad, muchos de ellos son parte fundamental de la flora bacteriana del cuerpo, necesarias para el funcionamiento normal del organismo.

Estafilococos

Las bacterias que pertenecen al grupo de los estafilococos suelen crecer en grupos y en forma de racimos; se caracterizan por ser gram positivos y presentan un alto desarrollo en medios de cultivos aeróbicos o microaerofílicos. Brooks, Carroll, Butel, Morse y Mietzner (2011) indican que muchos géneros son parte de la flora bacteriana normal de la piel y de las mucosas; sin embargo, son capaces de producir alteraciones como abscesos e infecciones. También indican que las especies más importantes de este género a nivel clínico son el *S. aureus*, *S. epidermis* y *S. saprophyticus* (p.185).

Figura 2. Tinción de Gram del *S.aureus*



Nota: Brooks et al. (2011)

Staphylococcus aureus

Según mencionan Bush, Schmidt y Pérez (2018), el *S. aureus* pertenece al grupo de los estafilococos gram positivos y se destaca por ser la más patógena y con la mayor capacidad de desarrollar resistencia a los antibióticos. La piel es el medio de infección más común de esta bacteria; además, se le confiere la capacidad de producir metástasis a distintos órganos del ser humano como pulmón, riñón, huesos, entre otros, complicando así el tratamiento con el cual se debe erradicar el patógeno (párr. 1-10).

El ser humano tiene aproximadamente un 30% de *S. aureus* como flora bacteriana normal en el cuerpo; a pesar de esto, al existir una alteración o exposición de esta bacteria, tiende a producir infecciones peligrosas. Las poblaciones más susceptibles a este tipo de bacteriemias son los niños en sus primeros años de vida y los adultos mayores, algo que probablemente se deba a la disminución que existe en el sistema inmune en los extremos de edad del ser humano (Tong, Davis, Eichenberger, Holland y Fowler, 2015, párr.2, 7).

Cervantes, García y Salazar (2014) indican que el ADN del *S. aureus* se localiza fuera del organismo, el cual se introduce de forma natural dentro de las bacterias; además, presenta

secuencias de inserción y bacteriófagos. También, su alta bacteriemia se debe a islas patogénicas encontradas en el ADN que portan genes de virulencia. Estas características explican la capacidad de colonización por medio del intercambio de genes por transferencia horizontal (p.29-30).

La transmisión de esta bacteria, según el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (2012), es a través de los alimentos, agua y contacto directo. Muchas de las infecciones son producidas por objetos punzocortantes contaminados con *S. aureus*; también se ha descrito que los animales son fuente de contaminación, la cual se transmite por sus mordeduras al ser humano. Por otro lado, es muy común el llamado “shock tóxico”, donde el paciente presenta síntomas como fiebre, hipotensión arterial, diarrea acuosa y erupción cutánea roja generalizada (pp.1-2).

Análisis microbiológico del *S. aureus*

Para el desarrollo de este apartado se tomará como referencia lo mencionado por los autores Zendejas, Ávalos y Soto (2014) y Casado, Torrico y Medina (2012).

Un medio de cultivo, según indican Casado, Torrico y Medina (2012), es aquella sustancia que alimenta a un microorganismo para que se lleve a cabo su desarrollo. Por otro lado, se refiere a cultivo cuando hay presencia de un crecimiento microbiano (p.3).

Zendejas, Ávalos y Soto (2014) mencionan que para determinar la presencia de *S. aureus* es necesario utilizar medios de cultivo junto con pruebas bioquímicas. Los principales medios para la identificación de esta bacteria se describen a continuación:

Agar sangre

Es un medio no selectivo y enriquecido con nutrientes como cloruro sódico, columbia o tripticase de soja. La sangre utilizada como aditivo para este método generalmente es sangre de carnero diluida al 5%, también puede ser de caballo, conejo e incluso humana. Facilita las

reacciones hemolíticas y puede o no contener sustancias inhibitoras del crecimiento de ciertos microorganismos (Casado, Torrico y Medina, 2014, p.14).

Figura 3. Cultivo de *S. aureus* en Agar Sangre



Nota: Sabalet (2010)

Agar Baird-Parker

Es uno de los principales medios que se utiliza para el recuento de *S. aureus*, donde un aspecto negro es indicativo de la presencia de estas bacterias; sin embargo, se debe realizar un frotis con coloración de gram para confirmar las colonias (Zendejas, Ávalos y Soto, 2014, p.135).

Figura 4. *S. aureus* en Agar Baird-Parker con Telurita de Yema de Huevo al 5%



Nota: EOLabs (2016)

Agar manitol salado

Para aislar de manera selectiva el *S. aureus*, se emplea este medio de cultivo. Consiste en inhibir los microorganismos que no sean estafilococos, a través de una concentración de cloruro sódico al 7,5%. Las colonias amarillas representan al *S. aureus*, los cuales son estafilococos coagulasa positiva (Zendejas, Ávalos y Soto, 2014, p.135).

Figura 5. Cultivo de *S. aureus* en Agar Manitol Salado

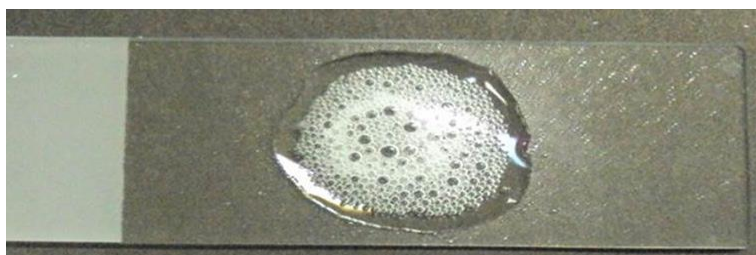


Nota: Sejas, Zurita, Rodríguez, Espinoza y Sejas (2016)

Prueba de catalasa

Esta prueba identifica la presencia de *Staphylococcus aureus* debido a la liberación de burbujas que se observa al agregar una solución de peróxido de hidrógeno sobre las colonias del microorganismo (Zendejas, Ávalos y Soto, 2014, p.136).

Figura 6. Prueba de Catalasa Positiva para Estafilococos

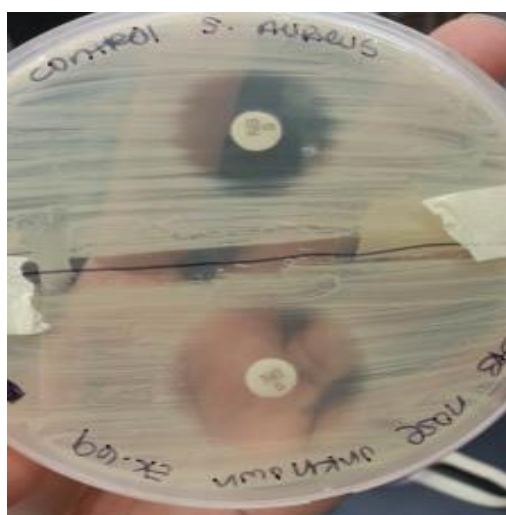


Nota: Higueta (s.f.)

Agar Mueller-Hinton

De acuerdo con lo mencionado por Casado, Torrico y Medina (2012), este es un medio seleccionado para pruebas de susceptibilidad microbiana, debido a su alta reproductibilidad, su poco contenido de sustancias inhibitoras y su capacidad para obtener un crecimiento satisfactorio de la mayoría de los microorganismos patógenos no fastidiosos (p.21).

Figura 7. *S. aureus* en Agar Mueller-Hinton



Nota: Brownie (2014)

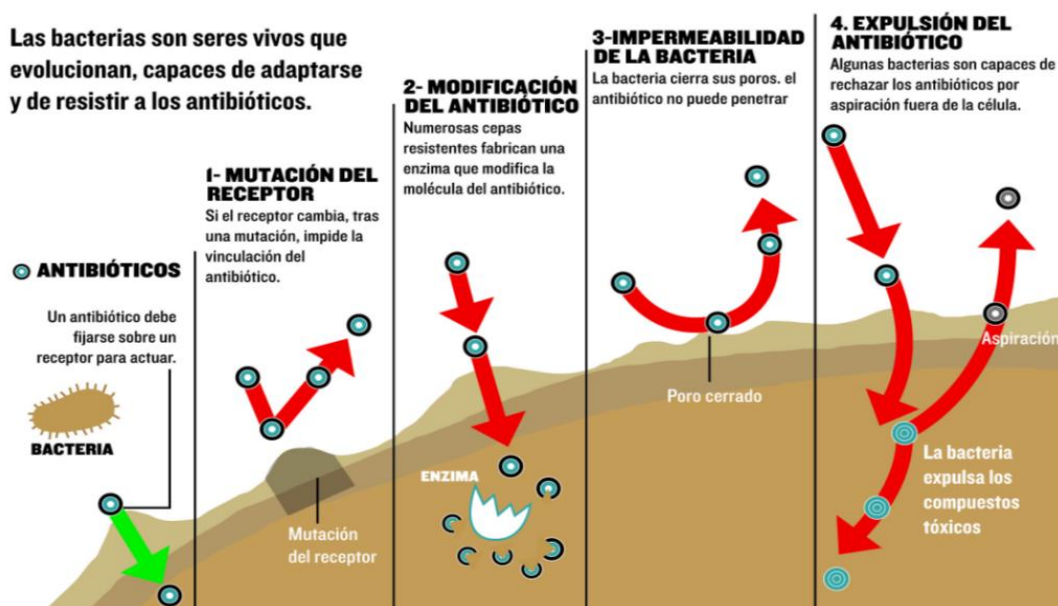
Resistencia bacteriana

Según menciona la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2017), una resistencia bacteriana es producida cuando un microorganismo sufre un cambio en su estructura genética para impedir que el medicamento sea capaz de identificarlo y destruirlo. El uso inadecuado de estos medicamentos es la principal razón por la cual se presenta una resistencia. Un microorganismo tiene la capacidad de producir infinidad de modificaciones frente a diferentes antibióticos (párr.6, 12).

Una infección bacteriana en la actualidad puede ser motivo de muerte. Antes era más fácil erradicar una enfermedad infecciosa con un antibiótico; sin embargo, el mal uso de estos

medicamentos incrementó la resistencia bacteriana, llevando además a un costo más elevado de los tratamientos para lograr combatir un microorganismo que ha presentado resistencia a estos. Algunas bacterias suelen permanecer con vida posterior a un tratamiento antibiótico; estas se reproducen y heredan mutaciones genéticas, con las cuales fueron capaces de resistir al antibiótico (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades [CDC], 2017, p.5, 10).

Figura 8. Mecanismos de Resistencia Bacteriana a los Antibióticos

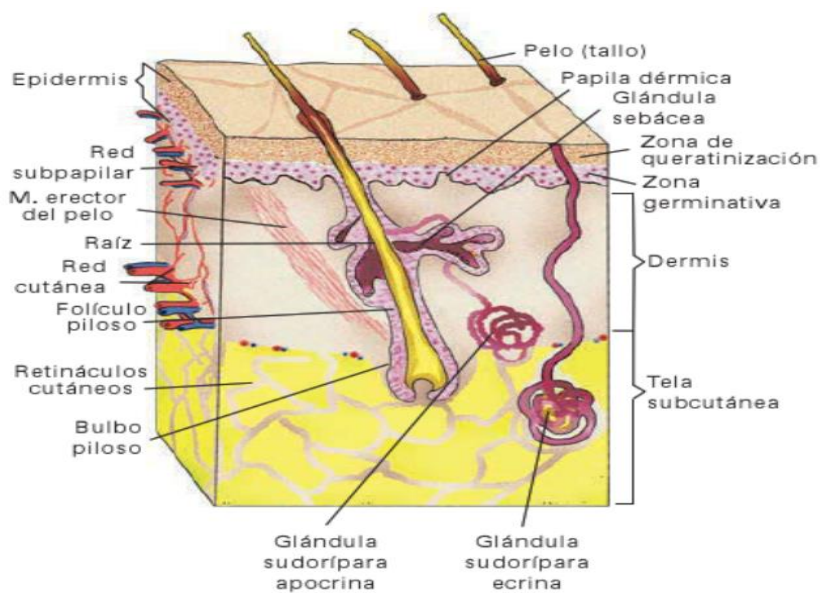


Nota: La Prensa(2016)

Piel

La piel está formada por tres capas superpuestas llamadas epidermis, dermis e hipodermis; esta en su totalidad constituye el órgano más grande del cuerpo humano. La parte externa de la piel (visible) es la que confiere protección, actuando como una barrera, además mantiene la homeostasis y contiene múltiples receptores encargados de los estímulos, como la temperatura, el dolor, el tacto, entre muchos otros (Cardelús, Galindo y García, 2013, pp.69-79).

Figura 9. Organización de la Piel



Nota: García y Hurlé (2013)

Características generales

El grosor de la piel no es igual en cada parte del cuerpo; en unas áreas, como las palmas de las manos y los pies, se considera más gruesa, debido a la acción que desarrollan estas partes del cuerpo, como lo son caminar y el tacto. Por otro lado, según García y Hurlé (2013), el color no es equitativo en toda la raza humana, la cantidad de pigmentación que contenga la piel define el color que esta vaya a presentar, así como la hemoglobina y la carotina. Por lo tanto, entre más pigmentos de melanina más oscura es la piel (p.14).

Por otro lado, Ira (2014) menciona que la parte externa de la piel llamada epidermis es una barrera protectora contra microorganismos patógenos y ayuda a evitar la pérdida de agua. En la dermis se encuentran las glándulas exocrinas donde se generan los folículos pilosos encargados de producir el vello, las glándulas sebáceas que se encargan de la lubricación mediante la exudación de sebo oleoso y las glándulas sudoríparas que ayudan a la termorregulación del cuerpo a través del sudor (p.19).

Funciones de la piel

Según García y Hurlé (2013), la piel cumple con una variedad de funciones, dentro de las cuales se encuentran las siguientes (pp.15-16):

Protección

Dentro de esta categoría se encuentra la protección contra el desequilibrio líquido, confiriéndole impermeabilidad a la piel para evitar la desecación. Por otro lado, se encuentra la protección mecánica, la cual se comporta como una barrera contra agentes externos y la térmica es fundamental para mantener constante la temperatura de la piel. Este efecto termorregulador se desarrolla gracias a la circulación sanguínea, tejido adiposo, vello y sudor.

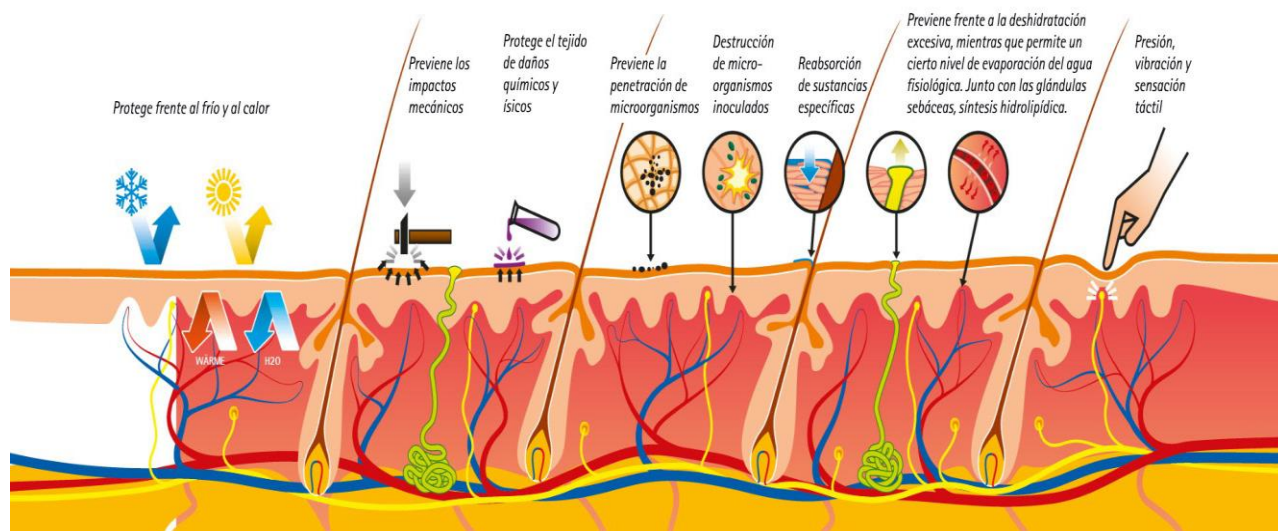
Comunicación

Las emociones son parte esencial de la vida del ser humano, y muchas de ellas son visibles mediante la coloración rojiza que se torna en la piel, producto de una vasodilatación o vasoconstricción. Otro medio de comunicación a través de la piel es el aspecto pálido que puede ser síntoma de alguna enfermedad.

Sensitiva

Al enfrentarse a una situación de peligro, el cerebro es el primer órgano informado mediante los receptores sensoriales ubicados en la piel, los cuales, al producirse un estímulo doloroso por una lesión o por una quemadura, inmediatamente envían señales al sistema nervioso central para activar la liberación de mediadores químicos y dar inicio a la corrección de la lesión producida.

Figura 10. Funciones de la Piel



Nota: Bbraun (s.f.)

Flora bacteriana de la piel

La piel presenta una flora normal bacteriana, donde los microorganismos que se hospedan en la superficie no producen ningún riesgo en la salud del ser humano. La única forma en que esta flora produzca infecciones es por una alteración de la barrera simbiótica, donde el sistema inmune es incapaz de controlar dicho desequilibrio. Además, Marks y Motley (2012) mencionan que dentro de los microorganismos simbióticos con la piel se encuentran los cocos gram positivos, bacilos gram positivos y ciertos microbios semejantes a las levaduras (p.38).

Torres (2013) indica que la extensión y la variación bacteriana territorial de la piel determinan la composición de la flora. Además, se mencionan los microorganismos presentes en la flora normal de la piel, dentro de los cuales se encuentran la *S. epidermis*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Propionibacterium* y *S. aureus*, como las más comunes. También se encuentran bacterias gram negativas, las cuales son parte de esta flora bacteriana; un ejemplo son las enterobacterias y *Acinetobacter* (p.4).

Enfermedades dermatológicas por estafilococos

El grupo de bacterias conocidas como estafilococos tienen la capacidad de desarrollar, en mayor proporción, infecciones a nivel de la piel. El *Staphylococcus aureus* es la principal bacteria que se ha encontrado dentro de este grupo, causante de infecciones que resultan difícil de erradicar con terapias antibióticas convencionales. Las infecciones pueden tomar un curso agudo e inclusive desencadenar una enfermedad crónica, esto depende de la potencia patógena de la cepa que esté afectando determinada área de la piel (Fernández, 2013, pp.23-24).

Erisipela

Según Suárez (2013), se manifiesta una inflamación aguda en la capa superficial de la dermis, donde el principal microorganismo causante de la enfermedad es el estreptococo β -hemolítico A; sin embargo, el *Staphylococcus aureus* también puede desencadenarla. Es muy común en niños y adultos mayores, quienes presentan síntomas como aumento de la temperatura, escalofríos, placa eritematosa en la piel que suele sentirse caliente y con edema. Esta situación puede continuar hasta el desarrollo de vesículas y ampollas dolorosas (pp.23-25).

Los principales factores de riesgo, según Arenas (2015), son traumatismos, hongos en las uñas de los pies (tiñas), higiene inadecuada, diabetes y enfermedades que comprometen el sistema inmune (párr.4).

Figura 11. Erisipela en Adulto



Nota: Arenas (2015)

Impétigo

El principal agente causante de esta infección superficial de la piel es el *Staphylococcus aureus*; esta es una enfermedad contagiosa que comienza con áreas rojas y edema que puede formar vesículas. Posterior a los primeros síntomas, se forma una especie de costra color amarillo-miel; esta manifestación clínica es la que permite un diagnóstico inmediato de la enfermedad y puede ser tratada sin necesidad de estudios de laboratorio, los cuales pueden retrasar el inicio de un tratamiento farmacológico (Marks y Motley, 2012, p.45).

Figura 12. Impétigo con Típica Costra Amarilla

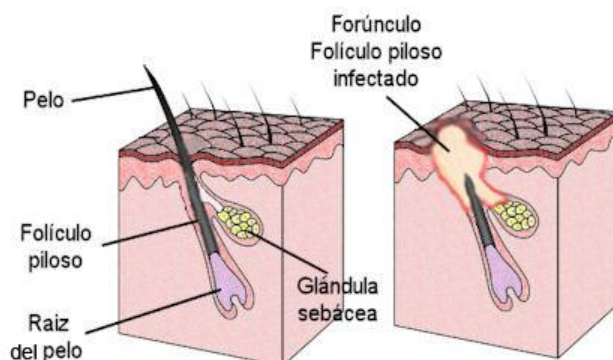


Nota: Stevens, Lowe y Scott (2011)

Forúnculo

Según lo descrito por Castro (2014), esta enfermedad es una inflamación localizada y abultada de la piel por la infección de un folículo piloso con *S. aureus*, también conocida como “absceso”. La lesión tiende a supurar y se presenta con mayor frecuencia en áreas del cuerpo húmedas, como pliegues de brazos y piernas, axilas, rostro y cuello (p.101).

Figura 13. Forúnculo

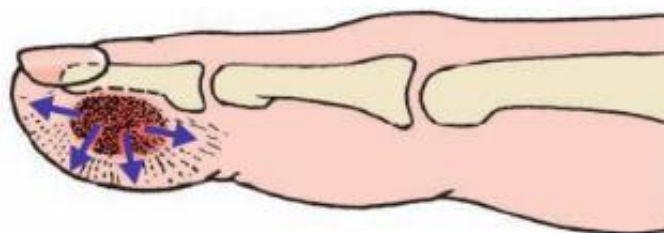


Nota: Pinheiro (2018)

Panadizo

Comienza con una lesión que comúnmente es causada por una manicura mal elaborada o astillas; se produce una infección por *S. aureus* en el espacio pulpar y generalmente afecta solo el dedo lesionado. Los tabiques fibrosos encontrados en las falanges le dan firmeza a la yema de los dedos; estos también limitan las secreciones purulentas de la infección, lo que incrementa el dolor por acumulación del material infectado en un punto delimitado (Dandy y Edwards, 2011, p.383).

Figura 14. Infección en el Espacio Pulpar (Panadizo)



Nota: Dandy y Edwards (2011)

Fitofármacos

Según la OMS (2017), son aquellos productos adquiridos mediante métodos tecnológicos adecuados donde se emplea materia prima de origen vegetal. Se caracterizan por su eficacia y el conocimiento de los riesgos de su uso.

Según Mendoza (2008), las plantas medicinales son aquellas que disponen de principios activos que pueden utilizarse en el tratamiento y curación de enfermedades. Entre sus principales objetivos está buscar la forma de sintetizar compuestos de estructuras conocidas para producir productos que sean patentables con mayor eficacia y menor toxicidad. Además, busca emplearlas como herramientas farmacológicas, como remedio medicinal, o bien, como un fitofármaco (p.922-925).

Como indica Madrigal (2017), se utilizan para el cuidado de la salud, la mejoría y la curación de enfermedades que la medicina tradicional no ha logrado sanar actualmente. También son excelentes coadyuvantes de ciertos medicamentos para aumentar su efectividad. Sin embargo, se ha establecido que su principal campo de acción son las afecciones leves y moderadas y presentan un bajo porcentaje de efectos secundarios (p.34).

La medicina natural, desde el inicio de los tiempos y hasta hoy, ha representado una de las alternativas más comunes para promover la salud, ya que es a partir de ella que nuestros antepasados curaban y trataban heridas y enfermedades, tal y como lo afirman Reyes, Palou y López (2012), cuando mencionan que una hoja colocada sobre una lesión proporcionaba alivio y una rápida curación (p.29-30).

Lilium candidum

Esta planta fue muy utilizada en la antigüedad y hoy en día se han dejado de lado sus investigaciones; por lo tanto, para la elaboración de este apartado se tomarán referencias con más de seis años de actualización.

Según describen Fonnegra y Jiménez (2007), esta flor pertenece a la familia Liliaceae; las partes de la planta más utilizadas son los bulbos y los pétalos. Los bulbos han sido los de mayor estudio, demostrando efectos antivirales, antioxidantes, astringentes y antiinflamatorios. Por otro lado, los pétalos, al tener un alto contenido de flavonoides, presentan una elevada acción antioxidante y antimanchas, como principales beneficios (pp.50,52).

Azucena o lirio blanco son otros nombres por los que se conoce a esta planta alrededor del mundo. China es la región que cuenta con un mayor número de especies de *L.candidum*; se conocen alrededor de 100 especies de lirios. En Holanda se ha desarrollado una exhibición de lirios en el mes de marzo y mayo; la ciudad de Akersloot es la que ha contado con la mayor cantidad de especies encontradas alrededor del mundo (García y Serrano, 2015, párr.6-7).

Clasificación taxonómica

La base de datos de plantas o *Plants Database* del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica (s.f.), brinda la siguiente clasificación sistemática de la planta:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Liliales

Familia: Liliaceae

Género: *Lilium* L.

Especie: *Lilium candidum* L.

Descripción botánica

Arango (2006) explica que las flores del lirio blanco constituyen un ramillete de seis pétalos alargados de color blanco y con un fuerte aroma; presenta un bulbo ancho, escamoso y color amarillo. Son muy apreciadas por su tallo alto, rígido, recto y frondoso, de hojas oblongadas. Del centro de la flor sobresalen seis estambres color amarillo intenso y cada tallo suele sostener de tres a diez flores (p.76).

Figura 15. Hojas de la Planta *Lilium candidum*



Nota: Autora (2018)

Fonnegra y Jiménez (2007), indican que la planta puede llegar a medir hasta dos metros de altura; el bulbo es escamoso y mide tres centímetros de longitud por un centímetro de ancho. Las hojas del tallo son de color verde, las de la parte superior son más largas que las inferiores. Las flores las describen como grandes, con pedúnculos largos y agrupados en racimos (p.50).

Figura 16. Planta de *Lilium candidum*



Nota: Cimi (2018)

Cultivo

Según mencionan García y Serrano (2015), los lirios presentan la particularidad de ser plantas fáciles de cultivar, gracias a que son resistentes a las distintas épocas del año; sin embargo, comúnmente suelen encontrarse en altas proporciones durante la primavera. En el invierno se debe tener un cuidado especial para resguardarlas del frío y así evitar la destrucción de las yemas de la planta, las cuales permiten el desarrollo de las flores (párr.13-14).

Por otro lado, Itzik (2010) indica que el suelo donde se va a plantar debe ser una tierra suelta, nutrida con materias orgánicas y cenizas de madera. El requisito indispensable es que el terreno sea de suelo ácido o neutro y que sean capaces de secar bien posterior a la época de invierno. Deben ser plantadas en lugares donde les dé el sol al menos una vez al día y de manera directa para que la planta crezca vertical (p.26).

Los bulbos deben ser plantados a una profundidad de aproximadamente 15 cm bajo tierra. Los cuidados que esta planta requiere no son difíciles, ya que no necesita abundante agua para crecer y una vez plantadas se desarrollan bien, inclusive pueden ser sembradas en macetas.

Pueden llegar a medir más de un metro de altura, y los bulbos suelen multiplicarse, por lo que a partir de una planta se puede llegar a obtener más azucenas, separando los bulbos que se desarrollan en la superficie (García y Serrano, 2015, párr.11-12).

Composición química

Las flores del *Lilium candidum* no han sido estudiadas a fondo, por lo que es importante conocer que el aislamiento para determinar con exactitud los principios activos que podría contener el extracto de los pétalos de lirio blanco es altamente escaso, además de que los registros existentes son superficiales y poco detallados.

El principal componente presente en los pétalos del lirio blanco son los flavonoides; también se encuentran taninos, alcaloides, entre otros. Pavani, Sravanthi y Ramabrahama (2015), muestran los resultados de los metabolitos activos obtenidos con pruebas de identificación. Se llevó a cabo mediante la extracción con metanol del aceite de las flores, utilizando el equipo Soxhlet. Los resultados se aprecian en la tabla 1 (p.526).

Tabla 1. Análisis Cualitativo del Extracto de las Flores de *Lilium candidum*

Fitoquímico	Prueba de identificación	Presencia en el extracto
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayers	+
	Wagners	+
Flavonoides	Shidona	+

	Reactivo alcalino	+
Glucósidos Cardiacos	Keller-kilianni	-
Florotanino	HCL	+
Saponinas	Prueba de espuma	+
Esteroides	Libbermann-Burchard	-
Taninos	FeCl ₃	+
Triterpenos	H ₂ SO ₄	+

(+): presente, (-): ausente

Nota: Pavani, Sravanthi y Ramabrahama (2015)

Alcaloides

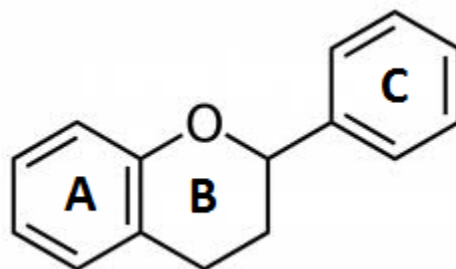
Estas moléculas provienen del grupo de compuestos nitrogenados que presentan una baja alcalinidad. Se han logrado identificar alrededor de 800 tipos de alcaloides lipofílicos. A nivel fisiológico, es muy perjudicial para la salud del ser humano, debido a su alta toxicidad. Los animales, por el contrario, utilizan este tipo de compuestos para crear una barrera protectora contra los depredadores; un ejemplo son los anfibios, los cuales ingieren alimentos con alto contenido alcaloide por el efecto nocivo que provocan en los músculos y los nervios a nivel de la boca (Cipriani y Rivera, 2009, p.43).

Por otro lado, Eisenreichová, Haladová, Mučaji y Grančai (2004), comprobaron la presencia de estos compuestos nitrogenados y mencionaron que son los constituyentes de mayor importancia del *L.candidum*. Los alcaloides diméricos fueron obtenidos mediante los pétalos del lirio blanco (p.30).

Flavonoides

Según mencionan Ochoa y Ayala (2004), estos metabolitos están presentes en la mayoría de las plantas, con alrededor de 4000 compuestos identificados. Este pertenece al grupo de los compuestos fenólicos, están formados por una estructura básica en forma de anillos que contiene en total 15 carbonos, como se muestra en la figura 17 (p.94):

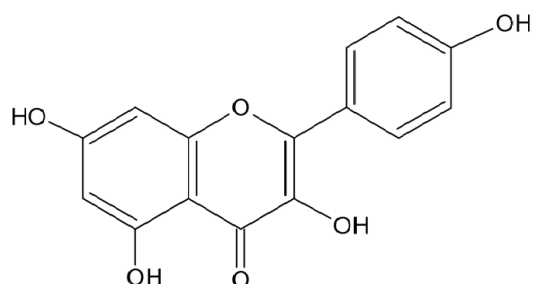
Figura 17. Estructura Básica de los Flavonoides



Nota: Ochoa y Ayala (2004)

Eisenreichová, Haladová, Mučaji y Grančai (2004), indican que los flavonoides presentes en las flores de *Lilium cadidum* son principalmente isoramnetina y kaempferol. La isoramnetina se determinó mediante cromatografía líquida, mientras que el segundo se demostró por infrarrojo, ultravioleta y espectro de masas (pp.28-29).

Figura 18. Estructura Química del Kaempferol



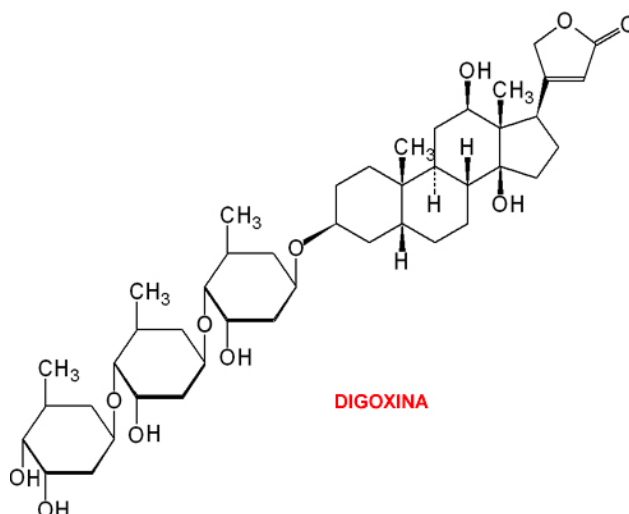
Nota: Eisenreichová, Haladová, Mučaji y Grančai (2004)

La isoramnetina y el kaempferol han sido estudiados para determinar la capacidad antibiótica que presentan. Ambos compuestos se han puesto a prueba contra el *S.aureus*, demostrando una alta capacidad antibacteriana, inclusive de amplio espectro, ya que además se probó con *Escherichia coli*, *S.typhi*, *S.disenteriae* y *S.pneumoniae*. Los resultados frente a cada microorganismo fueron positivos (Yogendra, Tirpude, Maheshwari, Bansal y Misra, 2013, p.14).

Glucósidos cardíacos

Son compuestos presentes en una gran variedad de plantas, principalmente en las Digitalis. Desde la antigüedad, la digoxina, principal componente que pertenece a este grupo, ha sido utilizado para la insuficiencia cardíaca congestiva y la fibrilación auricular (Torales, 2012, p.49).

Figura 19. Estructura Química de la Digoxina



Nota: Sociedad Interamericana de Cardiología (SIAC)(2015)

Taninos

Son sustancias de origen vegetal que pueden tener características hidrosolubles o no hidrosolubles. Presentan un alto número de grupos hidroxilo dentro de su estructura, por lo que se les atribuyen altos efectos antioxidantes. También son moléculas con la capacidad de producir uniones con otros compuestos como esteroides, saponinas y ácidos nucleicos (Claramunt, Farrán, López, Pérez y Gutiérrez, 2013, p.285).

Florotaninos

Ringuelet y Viña (2013), mencionan que constituyen el tercer grupo de los taninos; es uno de los menos frecuentes en las plantas y son compuestos altamente reactivos, capaces de formar puentes de hidrógeno y se oxidan fácilmente. Los taninos han presentado una actividad antibacteriana, demostrada por la extracción de la planta *Maytenus ilicifolia*, produciendo un efecto bacteriostático. Sin embargo, la actividad antiviral es la que se ha estudiado a partir del *Lilium candidum* (pp.125-126).

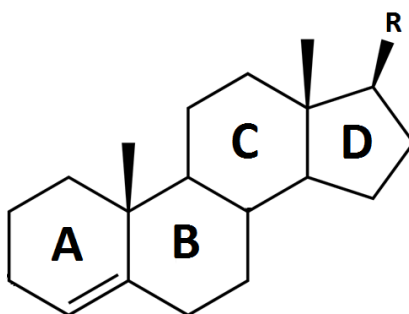
Saponinas

Como mencionan Ballesteros, Claramunt, Sanz y Teso (2013), son moléculas con acción tensoactiva y es muy común encontrarlas en diferentes tipos de plantas. Tienen la peculiaridad de formar espuma con soluciones acuosas. A pesar de que a nivel sanguíneo son altamente nocivas, su efecto se contrarresta al unir un colesterol (p.1002).

Esteroides

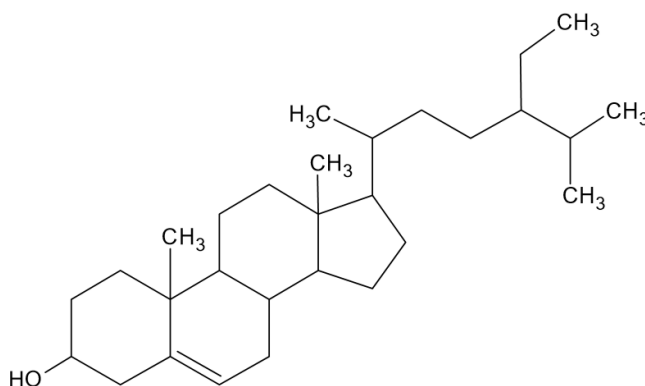
Según lo indicado por McMurry (2008), estos compuestos derivan del triterpeno lanosterol. Su estructura es peculiar y se compone por cuatro anillos, de los cuales tres son ciclohexanos y uno corresponde a un ciclopentano. Los esteroides más conocidos son las hormonas sexuales masculinas como testosterona y androsterona, y las femeninas estrona y estradiol. Por otro lado, a nivel renal, se excretan por medio de las glándulas suprarrenales los mineralocorticoides y glucocorticoides, los cuales representan un papel importante en el mecanismo de la inflamación (pp.1079-1083).

Figura 20. Estructura Básica de los Esteroides



Nota: McMurry(2008)

La presencia de β -sitosterol fue confirmada por Eisenreichová, Haladová, Mučaji y Grančai (2004) en *Lilium candidum*. Este compuesto es un esteroide que pertenece al grupo de los esteroides, el cual es abundante en las plantas (p.33).

Figura 21. Estructura del β -sitosterol

Nota: Eisenreichová et al. (2004)

Triterpenos

Presentan una estructura química compuesta por una alta complejidad cíclica, con una totalidad de 30 carbonos; se caracterizan por ser poco reactivos. Son consideradas moléculas altamente liposolubles (Ringuelet y Viña, 2013, p.160).

Usos medicinales

El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) (2001), aprobó en Colombia el uso externo de las flores del *Lilium candudim* para quitar manchas de la piel (p.2).

Arango (2006), menciona que las partes utilizadas de la planta son las flores frescas y el bulbo seco. Tiene la acción de ser astringente, antiinflamatorio y diurético. Los efectos adversos y las contraindicaciones aún no son conocidos; solo se deben mantener en lugares amplios y frescos, ya que sus flores, al presentar un olor fuerte, si se mantienen en cuartos encerrados, pueden provocar dolores de cabeza, mareos, náuseas y vómito (p.76).

Uno de los usos poco conocidos es la capacidad de desinfectar una herida; pueden incluso sustituir un apósito tradicional, para eso se utiliza la tintura de azucena. Los pétalos también son

utilizados mediante la preparación de tinturas oleosas para inflamaciones, prurito y quemaduras leves. También se ha demostrado que al aplicar el extracto directamente sobre una callosidad, tiende a secarla y, por ende, a eliminarla (Nuestro Herbario, 2016, pp.219-220).

Rigat et al. (2015), indican que las flores del lirio blanco se utilizan en varias formas farmacéuticas semisólidas como linimento para manchas en la piel y la loción para el prurito y cicatrices. Por otro lado, el bulbo es empleado mediante cremas y cataplasma. El cataplasma es un tratamiento tópico blando que comúnmente es aplicado caliente (p.168).

Entre las otras propiedades de esta flor se encuentra que es un buen remedio cosmético, ya que tiene función rejuvenecedora de la piel y antiinflamatoria; es además utilizada para forúnculos y piel enrojecida. Por otro lado, han determinado la capacidad antiviral que presenta contra el virus de Herpes simplex (Yarmolinsky, Zaccai, Ben-Shabbat, Mills y Huleihel, 2009, pp.307, 311).

El efecto anticancerígeno es otro de los efectos beneficiosos poco estudiados del lirio blanco. Onur, Hakan, Ramazan, Candan y Gökhan (2012), demostraron que esta planta presenta principios activos que tienen la capacidad de atacar las células del cáncer mamario y que es una flor potencial para la formulación de terapias con medicina natural para este tipo de enfermedades; sin embargo, se deben aislar los compuestos que presenten una posible actividad anticancerígena (p.1004).

A pesar de los múltiples beneficios del *L. candidum*, no se han encontrado investigaciones sobre los efectos antibacterianos que podrían presentar los componentes activos de los pétalos de dicha planta.

Salvia officinalis

Esta planta es proveniente del Mediterráneo, cultivada en Europa y América. Es muy utilizada en los hogares para los problemas digestivos, alteraciones en el estado de ánimo e infecciones (Penalva, 2014, p.118).

Vega (2013), menciona que la palabra salvia viene de “salvare”, debido a los múltiples beneficios que presenta esta planta para curar diversas enfermedades. Las principales acciones terapéuticas por la cual se conoce la planta son los trastornos menopáusicos, menstruales y fertilidad, además de ser capaz de equilibrar los estados emocionales. Presenta también una gran capacidad antibacteriana (p.190).

Clasificación taxonómica

A continuación, se muestra la respectiva clasificación que presenta la *S. officinalis* para permitir agruparla y diferenciarla del resto de plantas que pertenecen al mismo reino (Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS) report, 2012, tabla 2):

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Género: *Salvia*

Especie: *Salvia officinalis*

Descripción botánica

Según describe González (2009), es un arbusto muy ramificado, que puede llegar a medir hasta 150 centímetros de altura. Su tallo es de tipo leñoso, recto y con hojas opuestas lanceoladas color verde-gris. Las flores de estas plantas son grandes, con gran aroma y pueden ser color azul, blanco, rosa o morado. Se desarrollan en forma de espiga que contienen hasta seis flores. La raíz es fibrosa y robusta (pp.158-159).

Figura 22. Planta *Salvia officinalis*



Nota: Mazza (s.f.)

Cultivo

Debe ser sembrada en primavera; no es necesaria una tierra muy nutrida, pero sí que presente un buen drenaje. No se debe exceder con el agua, lo recomendable son dos riegos a la semana y el espacio entre cada planta cultivada oscila en unos 25cm. Una vez que alcance los 15 cm de altura, debe ser trasladada a otra tierra o maceta para beneficiar su crecimiento. Debe ubicarse en un lugar con luz exterior y que el sol dé directo a la planta; de lo contrario, es fácil que la planta se marchite (González, 2012, párr.16).

Como indica Kreuter (2005), la *S. officinalis* se encuentra en zonas pedregosas del área mediterránea. Se utiliza el compost para abonar la tierra en la cual se plantan las semillas; además, se le agrega pequeñas cantidades de calcio. Si el clima donde son cultivadas es de bajas temperaturas, se requiere de un cuidado especial para protegerlas del frío. Su fuerte aroma repele insectos como orugas, caracoles y pulgones (p.183).

Composición química

La *Salvia officinalis*, al igual que el *Lilium candidum*, presenta en sus hojas componentes como esteroides, flavonoides, y terpenos. Estos últimos son los más abundantes; sin embargo, las características farmacológicas de esta planta se dan gracias al conjunto de sus múltiples metabolitos (Sánchez, Pérez, Chávez y Rodríguez, 2005, párr. 16).

Baj et al. (2013), explica que los grupos que tienen mayor relevancia en el campo de la medicina son los monoterpenos, como α y β -tiujona, 1,8-cineol y alcanfor. Estos componentes se encuentran presentes en la *S. officinalis*, además de otros metabolitos activos (p.39).

Terpenos

Según Pino (2015), un terpeno es derivado de la unión de dos o más unidades de isopreno. Todos los terpenos se clasifican según el número de isoprenos, entre los cuales se encuentran el (n=1) hemiterpeno, (n=2) monoterpeno, (n=3) sesquiterpeno, (n=4) diterpeno, (n=5) sesterpeno, (n=6) triterpeno, (n=8) tetraterpeno y (n=10) politerpeno. Las letras “n” indican la cantidad de unidades de isopreno presente en la estructura (p.27).

Se ha demostrado la presencia de monoterpenos hidrocarbonados (α -pineno, β -pineno y limoneno) y oxigenados (α -tuyona, linalol y alcanfor) en los tallos y las hojas de la *S. officinales* como mayor contenido de metabolitos. En menor cantidad se encuentran los esterios monoterpénicos como el acetato de linalilo y una variedad de sesquiterpenos entre los cuales prevalece el trans-cariofileno (Santana et al., 2012, p.217).

Flavonoides

Como mencionan Sánchez, Pérez, Chávez y Rodríguez (2005), al analizar el aceite esencial de *Salvia officinalis* en un cromatógrafo, se detectaron la rutina y quercetina dentro de los principales flavonoides. Mediante la coloración de un verde amarillento, se determinó la presencia de estos compuestos a una frecuencia de 0,85nm a 0,94nm (párr.17).

Usos medicinales

Los principales beneficios que presenta la *Salvia officinalis* y que han sido reportados son los efectos antibacteriano, fungistático, astringente y antiséptico. Al contrario del *L. candidum*, esta planta ha sido estudiada para determinar las características antibióticas que presentan sus componentes activos. La destilación del aceite esencial de la *S.officinalis* es la que tiende a utilizarse para infecciones bacterianas, tos y bronquitis (Baj et al., 2013, p.35).

Melgarejo, Hillerns, y Narváez (2011), mencionan que una de las prácticas más utilizadas que se han demostrado es el uso bucal. Las propiedades astringentes y antisépticas ayudan a combatir enfermedades bucofaríngeas como lo son las aftas bucales, gingivitis, amigdalitis y faringitis. También, indican que, al ser una planta medicinal, se evitan los efectos secundarios que pueden desencadenar los medicamentos de síntesis química utilizados convencionalmente para este tipo de afecciones (p.110).

Por otro lado, Badiie, Nasirzadeh, y Motaffaf (2012), hablan sobre los resultados positivos en el tratamiento contra enfermedades respiratorias, digestivas, del corazón, metabólicas y endocrinas. El aceite esencial que se extrae de la *S. officinalis* favorece la circulación sanguínea y combate infecciones de las vías respiratorias superiores e inferiores (p.1).

Métodos de extracción

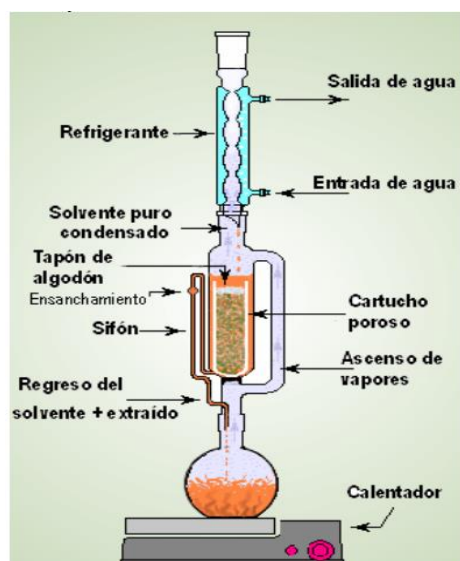
La separación y extracción de solutos o compuestos bioactivos presentes en plantas son procedimientos muy empleados en general. Para la separación de partes de plantas, es necesario ponerlas en contacto directo con una fase líquida que sea afín a los compuestos de interés; ambas fases deben entrar en contacto y los solutos difunden desde la fase sólida a la fase líquida cuando se llega a un equilibrio químico, lo cual permite una separación de los componentes de su estructura natural original (Martínez, 2016, pp.10-23).

Equipo Soxhlet

La extracción sólido-líquido mediante la utilización del equipo Soxhlet es uno de los más empleados, según Núñez (2008). Este método se fundamenta en colocar un disolvente afín a lo

requerido dentro del balón, la ebullición del solvente que se evapora hasta el condensador a reflujo y el condensado que cae sobre un cartucho que contiene la muestra vegetal en su interior. El proceso se repite las veces necesarias para el investigador o hasta que la muestra se agote y para purificar el extracto se requiere de la evaporación del solvente utilizado (pp.1-2).

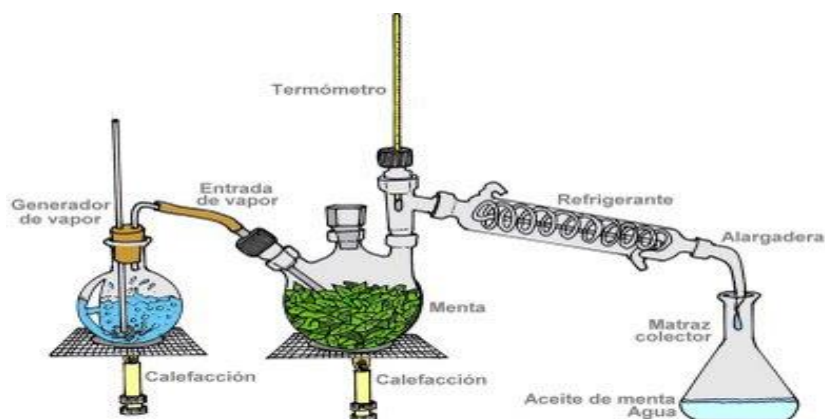
Figura 23. Extracción con Equipo Soxhlet



Nota: Núñez (2008)

Equipo Dean-Stark

Este método para obtener un extracto a partir de materia vegetal requiere de un balón de fondo redondo en el cual se coloca la muestra vegetal y el disolvente afín a sus componentes, además de una boca esmerilada ensamblada a una trampa Dean-Stark. Verticalmente, se une el condensador y se conecta a la boca superior de la trampa; el extracto se recoge en la trampa Dean-Stark (Ocampo, Ríos, Betancur, Ocampo, 2008, p.69).

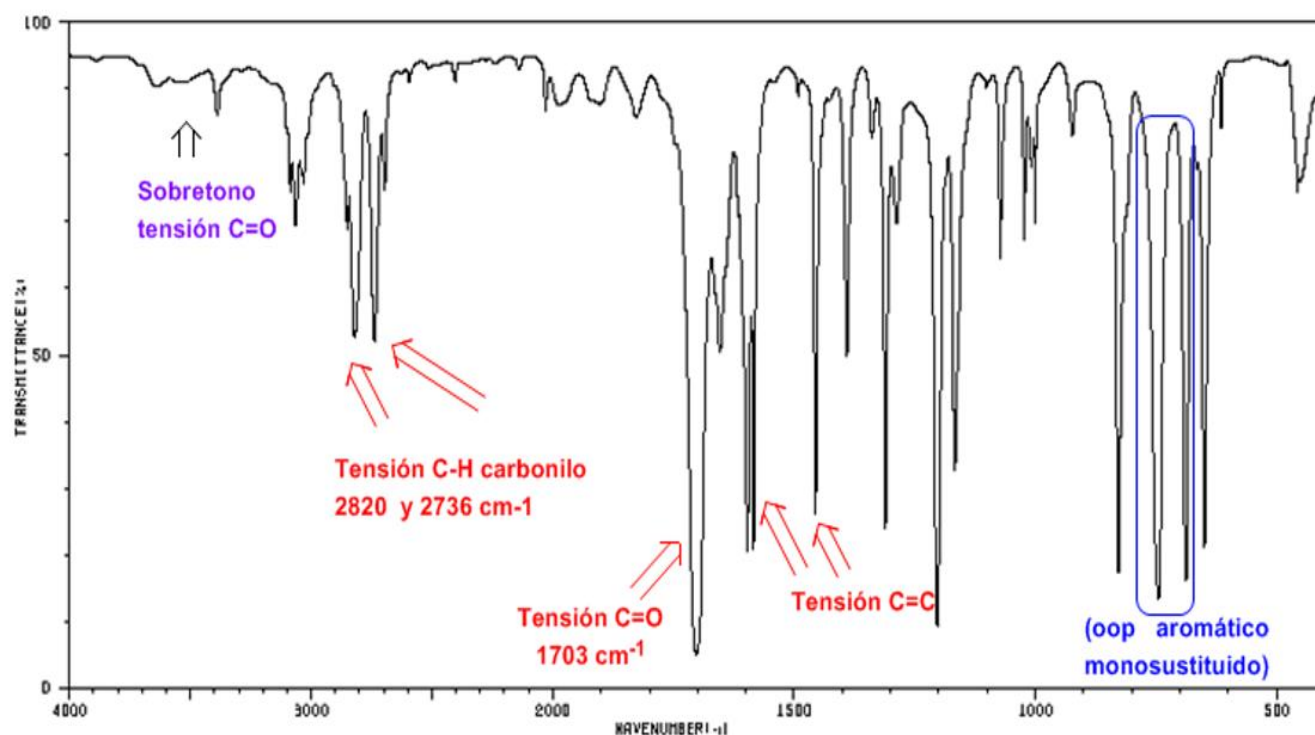
Figura 25. Equipo de Arrastre por Vapor

Nota: Aguilar (2012)

Análisis Espectroscopía Infrarroja

Piqué y Vázquez (2012), indican que la Espectroscopía Infrarroja (IR) es un tipo de absorción que se origina por la relación entre una radiación electromagnética y el objeto en estudio. Las sustancias presentan enlaces químicos con frecuencias de vibración específicas que se atribuye a los niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias dependen de la masa atómica, la superficie de energía potencial de la molécula, la estructura química y el acoplamiento de la vibración (pp.63-65).

Figura 26. Ejemplo de Espectro Infrarrojo



Nota: Vargas (2016)

McMurry (2008), menciona que la energía de una molécula es cuantificada, ya que cada una vibra con frecuencias específicas. Los grupos funcionales presentan ciertas bandas de absorción que no se modifican entre un compuesto y otro. Algunos ejemplos de los intervalos en los cuales se puede encontrar enlaces específicos son los de una cetona ($\text{C}=\text{O}$) que se encuentra entre $1680\text{-}1750\text{cm}^{-1}$, los alcoholes (O-H) de $3400\text{-}3650\text{cm}^{-1}$ y los alquenos ($\text{C}=\text{C}$) de $1640\text{-}1680\text{cm}^{-1}$ (p.423).

Figura 27. Absorciones IR Características de Grupos Funcionales

Grupo funcional	Absorción (cm ⁻¹)	Intensidad	Grupo funcional	Absorción (cm ⁻¹)	Intensidad
Alcano			Amina		
C-H	2850-2960	Media	N-H	3300-3500	Media
Alqueno			C-N	1030-1230	Media
=C-H	3020-3100	Media	Compuesto carbonílico		
C=C	1640-1680	Media	C=O	1670-1780	Fuerte
Alquino			Ácido carboxílico		
≡C-H	3300	Fuerte	O-H	2500-3100	Fuerte, amplia
C≡C	2100-2260	Media	Nitrilo		
Haluro de alquilo			C=N	2210-2260	Media
C-Cl	600-800	Fuerte	Nitro		
C-Br	500-600	Fuerte	NO ₂	1540	Fuerte
Alcohol					
O-H	3400-3650	Fuerte, amplia			
C-O	1050-1150	Fuerte			
Areno					
C-H	3030	Débil			
Anillo aromático	1660-2000	Débil			
	1450-1600	Media			

Nota: McMurry(2008)

Análisis Cromatografía de Gases

En una cromatografía de gases la muestra en estudio se volatiliza y se inyecta en una columna cromatográfica. Se determina mediante el flujo de una fase móvil que es un gas inerte; a diferencia de otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interacciona con las moléculas del analito, solamente se encarga de transportarlo a través de la columna. La principal ventaja es que dispone de detectores universales y los métodos son más simples, rápidos y sensibles (Ozores, 2016, párr.1-2).

Por otro lado, Contreras y Molero (2011), mencionan que un cromatógrafo de gases está formado principalmente por un gas inerte que se encuentra a presión, las columnas del cromatógrafo, donde se inyecta la muestra que se requiere analizar, detectores de compuestos y en algunos casos colectores que recogen el sobrante de las muestras ya analizadas. También, esta técnica de análisis permite obtener resultados cualitativos y cuantitativos (p.113).

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

En el siguiente capítulo se describirá lo referente a los procedimientos para llevar a cabo el estudio experimental en el laboratorio, la recolección de los datos y el análisis de resultados fundamentales para el cumplimiento de los objetivos y dar respuesta a la interrogante formulada en el planteamiento del problema.

Enfoque

El enfoque de la presente investigación es de tipo cuantitativo, debido a la utilización de diversas variables que logran ser medibles a determinado tiempo. Además, se requiere de instrumentos para la recolección de los datos, los cuales son traducidos en datos numéricos y tabulados, generando así resultados con la aplicación de la estadística; estos deben ser interpretados con la finalidad de resolver el problema planteado. Por esta razón, como mencionan Hernández, Fernández y Baptista (2014), el enfoque cuantitativo es una aproximación en la que se intenta probar una hipótesis basados en el análisis de resultados obtenidos en la medición de las variables (p.4).

Método

El método de la investigación es de tipo experimental, ya que como indican Hernández, Fernández y Baptista (2014): “La esencia de esta concepción de experimento es que requiere la manipulación intencional de una acción para analizar sus posibles resultados” (p.129). Este trabajo requiere la selección de un método para obtener el aceite esencial de una planta, lo cual requiere modificar el equipo y reactivos utilizados para posteriormente analizarla frente a un microorganismo y así determinar su efecto terapéutico.

Se considera un diseño experimental debido a que involucra la extracción de un aceite esencial por diversos métodos para determinar el de mayor rendimiento, así como la identificación de principios activos del aceite, pruebas in vitro para determinar la capacidad antibacteriana y la comparación de los resultados con los que ya han sido obtenidos de la *S.officinalis*.

Fuentes de información

A continuación, se detallan los recursos fundamentales con los cuales se llevó a cabo la parte experimental del trabajo de investigación:

- 1- Flores de *Lilium candidum*
- 2- Equipo Soxhlet
- 3- Equipo de arrastre por vapor
- 4- Equipo Dean-Stark
- 5- Cepas de *Staphylococcus aureus*
- 6- Agar Mueller-Hinton
- 7- Cromatografía de gases
- 8- Espectro infrarrojo
- 9- Concentraciones del aceite esencial de *L. candidum*
- 10- Resultados del aceite de *Salvia officinalis*

La parte experimental del trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de la Universidad Internacional de las Américas, en donde se extrajo el aceite esencial de la planta; se probó su efecto sobre el *Staphylococcus aureus* en las instalaciones del Laboratorio Microlabs en Guadalupe, esto para lograr cumplir con los objetivos propuestos en el proyecto.

Instrumentos

En el apartado a continuación se mencionan los recursos necesarios para desarrollar el proyecto de investigación, los cuales incluyen los reactivos y cristalería que se debe utilizar.

Obtención del aceite esencial de *Lilium candidum*

Las flores de lirio blanco utilizadas para la extracción se obtuvieron del Mercado Central de San José, el mismo día que se extrajo el aceite, ya que se requería de material fresco.

Para realizar una adecuada extracción del aceite de los pétalos del lirio blanco es indispensable conocer los materiales y reactivos que se requieren para desarrollar los

procedimientos, por lo cual cada instrumento necesario para la obtención del aceite se menciona en la siguiente lista.

Material y equipo

Balanza granataria

Pétalos de lirio blanco

Guantes de látex

Equipo Soxhlet

Equipo de arrastre por vapor

Equipo Dean-Stark

Beaker de 250mL

Beaker de 100mL

Beaker de 500mL

Calentador-agitador

Pastillas de agitación magnética

Termómetros

Rotavapor

Pipeta 50mL

Reactivos

Agua destilada

Etanol

Sulfato de sodio anhidro

Pruebas de identificación

Para determinar la presencia de los principales metabolitos activos del aceite de los pétalos de *Lilium candidum* se requiere de diversas pruebas que ante la presencia de un compuesto cambian de color al agregar determinado reactivo. Los materiales utilizados son los que se muestran en la lista a continuación; de igual manera, se mencionan los reactivos necesarios.

Materiales y equipo

Tubos de ensayo

Goteros

Gradilla

Probeta 5mL

Reactivos

Aceite de *Lilium candidum*

Ácido sulfúrico

Cloruro férrico 10%

Reactivo de Dragendorff

Anhídrido acético

Preparación de soluciones de *Lilium candidum* a diferentes concentraciones

Para lograr resultados comparativos con la *Salvia officinalis*, se tomó el procedimiento de Blanco (2017), así las concentraciones y el medio de dilución serían los mismos, de modo que se lograra una efectiva comparación de los datos.

Al preparar distintas concentraciones del aceite, se logra determinar la concentración a la cual presenta mayor actividad contra el microorganismo, para lo cual se requieren los siguientes instrumentos y reactivos.

Materiales y equipo

Balón aforado de 500 mL.

Balón aforado de 25 mL.

Goteros

Beaker 50 mL

Pipeta graduada de 1mL y 2mL

Balanza analítica

Reactivos

Aceite de Lilium candidum

Solución salina estéril

Tween 80

Realización de antibiograma

A continuación, se listan los materiales y principales reactivos necesarios para llevar a cabo la prueba de sensibilidad a antibióticos, tanto con el extracto como con discos de los fármacos más utilizados para el tratamiento de infecciones por *S. aureus*.

Materiales y equipo

Cepas de *S. aureus*

Micropipeta de 5 μ L

Placas Petri

Agar nutritivo

Cámara de flujo laminar

Incubadora

Regla con escala milimétrica

Reactivos

Solución de *L. candidum* a las siguientes concentraciones: 0,5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL, 4 mg/mL, 5 mg/mL, 6 mg/mL, 7 mg/mL, 7,5 mg/mL, 8 mg/mL, 8,5 mg/mL y 9,5 mg/mL.

Procedimiento de recolección y análisis de los datos

En el siguiente apartado se describen detalladamente los procedimientos por los cuales se debe desarrollar cada parte experimental de este trabajo de investigación.

Es importante destacar el lavado de la cristalería que se requiere para llevar a cabo cada procedimiento descrito. Por este motivo, cada cristalería y equipo utilizado se lavó con agua y jabón; posteriormente, se realizaron tres enjuagues con agua destilada y se secó con toallas de papel.

Obtención del aceite esencial de *Lilium candidum*

Los pasos con los cuales se llevó a cabo cada técnica de extracción del aceite esencial de *Lilium candidum* se describen en los siguientes párrafos.

Extracción con equipo Soxhlet

En un beaker de 250mL, sobre una balanza granataria, se pesó 100 g de los pétalos de lirio blanco a los que se les había removido los estambres, como se muestra en la figura 28. Una vez pesados, se introdujeron en el cartucho del Soxhlet. Se procedió luego al armado del equipo, observado en la figura 29. Con la ayuda de un soporte universal, se colocó el calentador-agitador y de forma vertical se aseguró el balón de fondo plano de 500mL que contenía 250mL de alcohol etílico a 96°. El material vegetal y el condensador se colocaron en posición de reflujo. Se ajustaron mangueras de entrada y salida al condensador; la de entrada estuvo conectada a una bomba de inmersión sumergida en un baño de agua-hielo dentro de una hielera, la de salida se sumergió en la misma hielera.

Figura 28. Pesado de los Pétalos de Lirio Blanco



Figura 29. Equipo Soxhlet Empleado en la Obtención del Extracto



Se calentó a 300°C según lo indicado en el calentador para efectuar la extracción por un espacio de 5 horas. Una vez culminada la extracción, se trasvasó el extracto contenido en el balón de fondo plano de 500mL del Soxhlet, con ayuda de un embudo de espiga, al balón de fondo redondo de 500mL del rotavapor y se eliminó el etanol calentando a 78 °C.

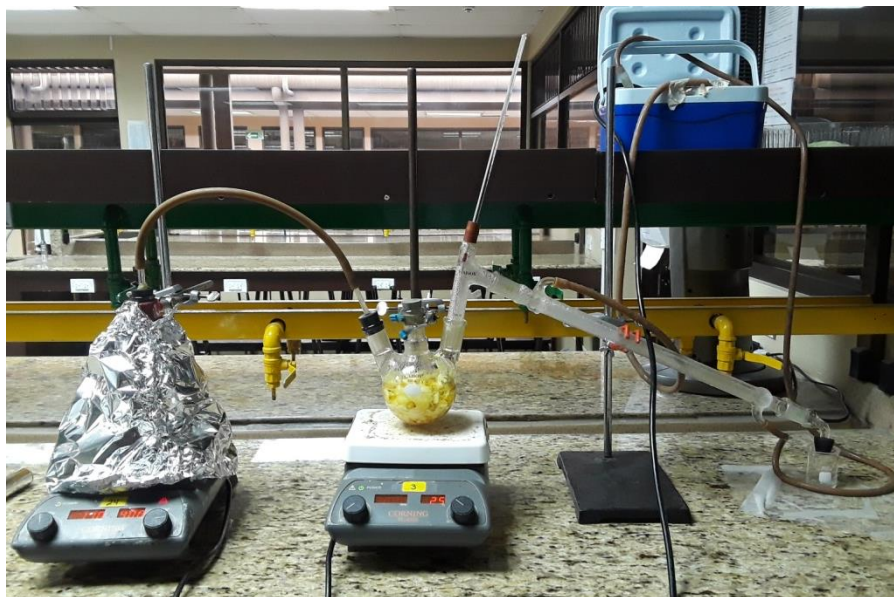
Al observar que por el condensador del rotavapor ya no destilaba el disolvente y no caía más etanol en el balón recolector, se detuvo el equipo. Posteriormente, se le agregó al extracto obtenido Sulfato de Sodio Anhidro para eliminar rastros de humedad, se trasvasó el extracto, con un embudo de espiga y un algodón, a una probeta de 50mL para medir el volumen obtenido. Posterior a la medición, se trasvasó el extracto de la probeta a un envase de vidrio color ámbar para protegerlo de la luz.

Extracción con arrastre de vapor

Dentro de un beaker de 250mL, se pesó 100g de pétalos de lirio blanco sin los estambres, sobre una balanza granataria. Luego, se colocaron los pétalos en un balón de tres bocas de 500mL junto con 10mL de agua destilada; adicionalmente, en un balón de fondo plano de 500mL se agregó 300mL de agua destilada. Con ayuda de un soporte universal, se colocó el calentador-agitador y en forma horizontal se armó el equipo de extracción por arrastre de vapor.

Como se observa en la figura 30, el balón de fondo plano de 500mL se conectó por medio de una manguera que contenía en ambos extremos un tapón, para las bocas de los balones, al balón de tres bocas que contenía la materia vegetal. El condensador se incorporó a la tercera boca del balón con los pétalos, y se conectó al condensador la manguera de entrada de agua conectada a la bomba de flujo sumergida en agua con hielo, dentro de una hielera, y la manguera de salida dentro de la misma hielera.

Figura 30. Equipo de Arrastre por Vapor Empleado en la Extracción



Se calentó el balón de 500mL que contenía el agua destilada a 300 °C, según el indicador del calentador. El balón de tres bocas se calentó a 25°C, según lo indicaba el calentador, y el destilado se recogió en un beaker de 50mL. Una vez pasadas las 5 horas de extracción, se trasvasó, con un embudo de espiga, al balón de fondo redondo de 500mL del rotavapor; este se calentó a 100°C y al transcurrir 4 horas, se apagó el equipo y se trasvasó el aceite con una pipeta aforada de 2mL a un beaker de 100mL, donde se le agregó al aceite Sulfato de Sodio Anhidro para eliminar rastros de humedad.

Posteriormente se midió el aceite con una probeta de 5mL con ayuda de un embudo de espiga y un algodón para filtrar y luego se trasvasó a un frasco de vidrio color ámbar para guardarlo y protegerlo de la luz.

Extracción con equipo Dean-Stark

Se pesaron 100g de los pétalos de lirio blanco sin estambres en un beaker de 250mL, sobre una balanza granataria. Se utilizó un balón de fondo plano de 500mL para colocar el material vegetal pesado y se le añadió 300mL de etanol a 96°. En forma vertical, se unió la trampa Dean-Stark al balón y se colocó el refrigerante con las mangueras de entrada y salida de

agua dentro de la hielera que contenía la bomba de flujo de agua con hielo (figura 31). Se procedió a calentar a 300°C , según lo indicado en el calentador; el destilado que iba cayendo en la trampa Dean-Stark se recogió en un erlenmeyer de 500mL.

Luego de transcurridas 5 horas, se apagó el equipo y se trasvasó el extracto, con ayuda de un embudo de espiga, al balón de fondo redondo de 500mL del rotavapor y se eliminó el etanol calentando a 78°C , hasta observar que por el condensador del rotavapor ya no destilaba el disolvente y no caía más etanol en el balón recolector. Posteriormente, se trasvasó el aceite a un beaker de 100mL, donde se le agregó al aceite obtenido Sulfato de Sodio Anhidro para eliminar rastros de humedad; se trasvasó el aceite, con un embudo de espiga y algodón, a una probeta de 50mL para medir el volumen obtenido. Posterior a la medición, se guardó el aceite esencial en envase de vidrio color ámbar para protegerlo de la luz.

Figura 31. Equipo Dean-Stark Empleado en la Extracción



Tabla 2. Volúmenes del Aceite de Pétalos del Lirio Blanco Obtenidos en cada Método de Extracción

Método de extracción	Volumen (mL)	Pruebas organolépticas
Soxhlet	47	Color naranja claro, olor fuerte
Arrastre de vapor	3,3	Transparente, sin olor característico.
Dean-Stark	10	Color amarillo claro turbio, olor fuerte

Pruebas de identificación

Para determinar componentes activos importantes del aceite esencial obtenido se procedió a realizar pruebas de identificación para flavonoides, alcaloides y esteroides. Los reactivos de mayor toxicidad se trabajaron dentro de la cámara de gases del laboratorio de la Universidad Internacional de las Américas.

Por otro lado, es importante mencionar que las pruebas de identificación para alcaloides y esteroides se llevaron a cabo en la cámara de extracción de gases de la Universidad Internacional de las Américas y se utilizaron guantes de látex, con el fin de cumplir con las normas de seguridad al utilizar reactivos con un alto potencial tóxico y corrosivo, como se observa en la figura 32.

Figura 32. Cámara de Extracción de Gases



Identificación de flavonoides

Prueba de cloruro férrico

Se midieron 0,5mL del aceite de pétalos del *L. candidum*, con ayuda de un gotero, en una probeta de 5mL, los cuales se trasvasaron a un tubo de ensayo. A este aceite se le añadió dos gotas de cloruro férrico al 10%, lo que resultó en una coloración verde, lo que indicaba una prueba positiva.

Identificación de alcaloides

Reactivo de Dragendorff

Se añadió tres gotas del aceite en un tubo de ensayo; posteriormente, se agregó gota a gota el reactivo de Dragendorff, hasta observar un cambio de coloración a un naranja intenso, lo cual señalaba la presencia de alcaloides.

Identificación de esteroides

Liebermann-Burchard

Se midió 0,5mL del aceite esencial en una probeta de 5mL y se trasvasó a un tubo de ensayo, al cual se le agregó además 1mL de anhídrido acético. Posterior a esto, se agregó gota a gota Ácido Sulfúrico y se agitó suavemente. Se observó el cambio de coloración a un naranja-marrón, que indica una prueba positiva.

Preparación de soluciones de *Lilium candidum* a diferentes concentraciones

Se inició con la preparación del solvente, para lo cual se utilizó Tween 80 que, según indica Acofarma (2013), es un agente emulgente que permite la disolución del aceite esencial en un medio acuoso de manera uniforme y es comúnmente utilizado para soluciones O/W o aceite en agua (p.2). Se agregaron dos gotas de Tween 80 en un balón aforado de 500 mL y se llevó a aforo con solución salina estéril. Seguido de esto, se preparó la solución madre a una concentración de 200mg/mL, para lo cual, en un balón de 25mL, utilizando una balanza analítica para obtener un peso más preciso (figura 33), se pesó 5 gramos del aceite esencial obtenido mediante el equipo Soxhlet y en otro balón de 25 mL, el aceite extraído mediante el equipo Dean-Stark. Luego se llevó a aforo con el solvente previamente preparado.

Figura 33. Peso Obtenido de los Aceites Esenciales para la Concentración Madre



Una vez obtenida la solución madre (figura 34), se llevó a cabo la preparación de las diluciones a las distintas concentraciones, para el aceite obtenido en cada método de extracción. Con ayuda de una pipeta volumétrica de 1mL y 2mL, se tomaron las alícuotas correspondientes mostradas en la tabla 3, para preparar las concentraciones a 0,5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL, 3 mg/mL, 4 mg/mL, 5 mg/mL, 6 mg/mL, 7 mg/mL, 7,5 mg/mL, 8 mg/mL, 8,5 mg/mL y 9,5 mg/mL, en balones aforados de 25 mL, llevando a aforo con el solvente (figura 35).

Figura 34. Solución Madre del Aceite Obtenido por el Equipo Dean-Stark y Soxhlet



Figura 35. Diluciones del Aceite Esencial de *Lilium candidum*



Posterior a realizar las soluciones del aceite esencial, se trasvasaron a envases de vidrio color ámbar para protegerlas de la luz y transportarlas a las instalaciones del laboratorio Microlabs, donde se llevaron a cabo las pruebas microbiológicas.

Tabla 3. Valores para Preparar Soluciones del Aceite de *Lilium candidum*

Concentración (mg/mL)	Alícuotas (mL)
0,5	0,1
1	0,2
2	0,3
3	0,4
4	0,5
5	0,6
6	0,7
7	0,8
7,5	0,9

8	1
8,5	1,1
9,5	1,2

Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Lilium candidum* a distintas concentraciones

En esta fase, se evaluó la posible actividad antibacteriana a distintas diluciones del aceite esencial de pétalos de lirio blanco, en medio de cultivo Mueller-Hinton de una cepa de *S. aureus*. Para ello se contrató los servicios que brinda el Laboratorio Análisis Microbiológico Microlabs, el cual brindó los materiales, insumos y equipo requeridos para su elaboración.

En una cámara de flujo laminar encendida con al menos 10 minutos de anticipación y con la ventana baja, se procedió a elaborar medio de cultivo Mueller-Hinton sobre Placas Petri de 90mm diámetro. Esta se dejó solidificar en reposo unos 10 minutos.

Con el uso de puntas estériles de micropipeta, se procedió a realizar hoyos uniformes a la misma profundidad en el agar de la placa. No se realizó más de tres hoyos para garantizar que en caso de formarse halos de inhibición no se cruzaran entre sí; se garantizó que la profundidad de los hoyos fuese similar.

Mediante técnica de hisopado, se realizó un barrido del caldo de la cepa de *S. aureus* en toda la superficie del medio de cultivo con los hoyos ya elaborados. En el primer hoyo se adicionó 5 μ L de la solución madre de 200mg/mL; en el segundo hoyo, 5 μ L de la dilución de 5 mg/mL; y en el tercer orificio, 5 μ L de 9,5 mg/mL. Se rotuló cada aplicación hecha, de forma que no se confundieran; para ello se utilizó marcador permanente en la parte posterior de la placa. Se tapó y colocó en la incubadora por 24 horas a una temperatura de 35°C.

Una vez transcurridas las 24 horas, se sacaron las placas y se colocaron en la cámara de flujo laminar. Se evaluó si se dio la formación de halos de inhibición que demuestren la posible actividad antimicrobiana del aceite esencial de *L. candidum* para cada una de las aplicaciones realizadas por placa. Al observarlas cuidadosamente, no se apreció ningún halo de inhibición para ninguno de los métodos de extracción.

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Los resultados e información que se proporcionan en este capítulo son los obtenidos durante el desarrollo de la investigación para cada variable planteada, basado en los objetivos específicos establecidos.

Obtención del aceite esencial a partir de los pétalos del *Lilium candidum*

Para este objetivo se tomó en cuenta tres tipos diferentes de extracción, variando el solvente únicamente para el equipo de arrastre por vapor.

Previo a llevar a cabo las extracciones, el material vegetal utilizado se sometió a la selección de los pétalos de la planta, las cuales debían ser frescas. Se desprendieron del tallo y se eliminaron los pistilos de la flor, tal como se muestra en la figura 36.

Figura 36. Pétalos de Lirio Blanco Separado para las Extracciones



Al momento de llevar a cabo las extracciones, se colocó papel aluminio alrededor del balón de fondo plano y el calentador (figura 37), para mantener el calor dentro del área y así acelerar el proceso de extracción. Al realizar una prueba quitando el papel aluminio durante la extracción, disminuyó la velocidad de destilación.

Figura 37. Papel Aluminio Alrededor del Balón de Fondo Plano y Calentador



Extracción con equipo Soxhlet

Como menciona Núñez (2008), el equipo Soxhlet es el método más utilizado para extraer aceites de material vegetal (p.1). El proceso de destilación dio la primera vuelta de destilación a los 45 minutos de iniciar el equipo; se mantuvo la temperatura a unos 300°C, según el marcador del calentador.

El tiempo total de destilación fue de 5 horas; posterior a este tiempo, el extracto que se obtuvo en el balón de fondo plano de 500mL, se trasladó al balón de fondo redondo de 500mL del rotavapor. Como indica Álamo (2018), este equipo permite la separación de sustancias por medio de la destilación y condensación (párr.1). Se mantuvo a una temperatura de 78°C para garantizar la evaporación total del etanol, hasta observar que ya no seguía destilando más solvente en el balón recolector. Este proceso de purificación del extracto tardó aproximadamente 78 minutos.

Con una pipeta volumétrica de 50 mL, se extrajo el extracto presente en el balón del rotavapor y se trasladó a un beaker de 100 mL; posteriormente, se le agregó al extracto obtenido Sulfato de Sodio Anhidro para eliminar rastros de humedad. Se trasladó el extracto, con un

embudo de espiga y algodón, a una probeta de 50mL para medir el volumen obtenido. Posterior a la medición, se guardó el extracto en un envase de vidrio color ámbar para protegerlo de la luz.

Como se observa en la figura 38, se obtuvo 43mL del extracto posterior a su purificación. Se percibió un olor fuerte a agradable como la flor, un color naranja intenso con una consistencia líquida.

Figura 38. Extracto Obtenido Mediante Equipo Soxhlet



Con el aceite extraído se realizaron las pruebas de identificación de los distintos componentes de las flores del lirio blanco.

Pruebas líquidas de caracterización del aceite obtenido mediante el equipo Soxhlet

En la figura 39 se observa el resultado obtenido de la prueba de Cloruro de hierro al 10%, la cual presentó una coloración verde, muestra de un resultado positivo para flavonoides, tal y

como lo indica Rengifo (2013), quien menciona que la Norma Salvadoreña establece que una prueba positiva con cloruro férrico es la obtención de una coloración verdosa o azul (p.55).

También es importante mencionar que, a la hora de realizar una prueba con agua destilada como blanco, el cambio de color no mostró un resultado positivo, ya que se produjo una coloración amarilla, pálida y turbia, como se muestra en la figura 40, lo cual demuestra que el resultado positivo obtenido se debe al extracto.

Figura 39. Prueba de Cloruro Férrico al 10% con el Extracto Obtenido Mediante el Equipo Soxhlet



Figura 40. Prueba Blanco de Cloruro de Hierro Realizado con Agua Destilada



Por otro lado, para evidenciar la presencia de alcaloides se llevó a cabo la prueba con el reactivo de Dragendorff, que según menciona Palacios (2013), es una solución de yodobismuto de potasio o KBiI_4 , que al agregar una sustancia que contenga alcaloides se formará una coloración naranja (p.5). Por esto, se determina una prueba positiva para el extracto obtenido mediante el Soxhlet, ya que se observa una coloración naranja fuerte en la figura 41. Por su parte, al realizar la prueba con un blanco, utilizando agua destilada, no se observa la coloración descrita, lo cual indica un resultado negativo al mostrar un color marrón y no la coloración naranja intensa (figura 42).

Figura 41. Prueba con Reactivo Dragendorff Realizado al Extracto Obtenido Mediante el Equipo Soxhlet



Figura 42. Prueba Blanco con Agua Destilada y Reactivo Dragendorff



Para la determinación de los esteroides, se llevó a cabo la prueba Liebermann-Burchard, que según indican Clavo y Ramírez (2002), el grupo OH del esteroide sufre una protonación, por lo que se produce una deshidratación, llevando así al cambio de coloración (p.48). En este caso, se observó que al utilizar un blanco no hubo ningún cambio de coloración (figura 44), se mantuvo transparente, mientras que al utilizar el extracto obtenido del equipo Soxhlet se observó una coloración naranja-marrón intensa, tal y como se muestra en la figura 43.

Figura 43. Prueba Liebermann-Burchard Realizada al Extracto Obtenido Mediante el Equipo Soxhlet

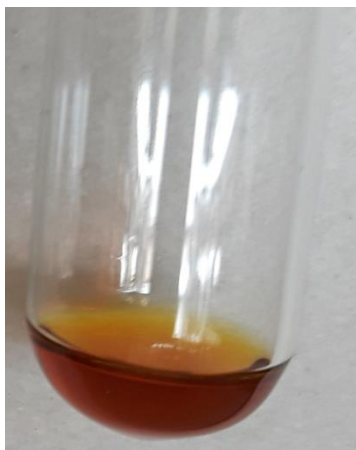


Figura 44. Prueba Blanco Liebermann-Burchard con Agua Destilada



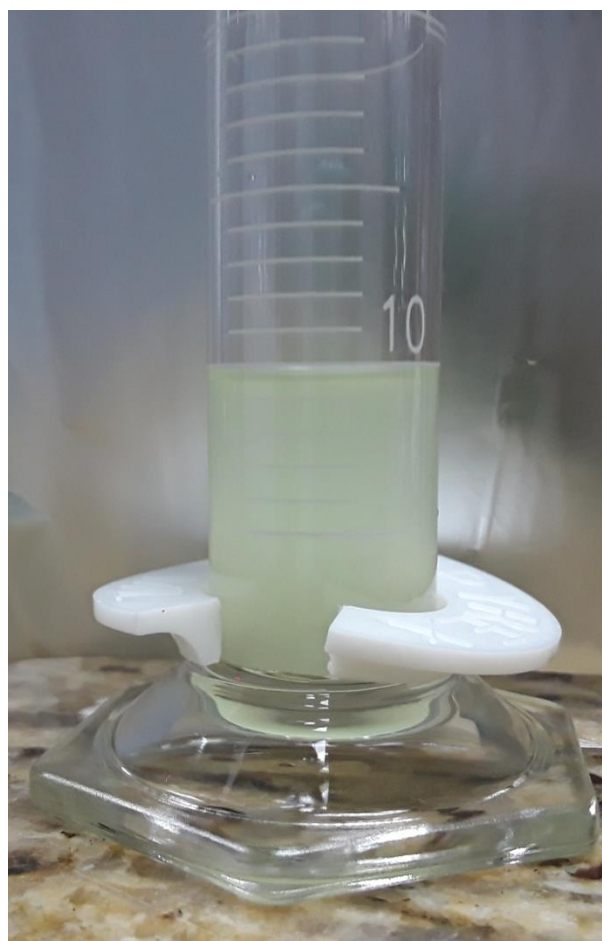
Extracción con equipo Dean-Stark

Como mencionan Ocampo, Ríos, Betancur y Ocampo (2008), este es otro método utilizado para realizar extracciones de materia vegetal (p.69). Una vez instalado el equipo, se procedió a encenderlo a una temperatura de 300 °C, según el marcador del calentador; la destilación dio inicio luego de 15 minutos.

Durante 5 horas se recogió el destilado en un erlenmeyer de 500mL y en otro de 250mL. Una vez pasado dicho tiempo de extracción, se detuvo el equipo y se trasvasó el extracto al balón de 1000mL del rotavapor; se preparó el equipo calentando a 78°C y con una rotación de 52 rpm. En menos de 2 horas se detuvo por completo la destilación del recolector del disolvente, indicando que al aceite esencial contenido en el balón de 1000mL se le había removido el disolvente de extracción.

Posteriormente, para eliminar rastros de humedad pudiesen afectar las pruebas cromatográficas e infrarrojo, se le agregó al aceite obtenido Sulfato de Sodio Anhidro y luego se trasvasó el aceite, con un embudo de espiga y un algodón, a una probeta de 50mL para medir el volumen obtenido, la cual se muestra en la figura 45. La cantidad total recolectada de aceite esencial fue de 10mL.

Figura 45. Aceite Esencial Obtenido por el Equipo Dean-Stark



El aceite se mostró turbio, con una coloración amarillo claro y un fuerte olor, como la flor del lirio blanco.

Pruebas líquidas de caracterización del aceite obtenido mediante el equipo Dean-Stark

Una vez obtenido el aceite esencial, se realizaron las pruebas de identificación respectivas para determinar, mediante análisis cualitativo, los componentes activos que presentan los pétalos del *Lilium candidum*. Se realizó un blanco en cada prueba para corroborar que, al no tener presente ningún metabolito activo, las reacciones daban negativas.

Al someter unas gotas del aceite a la prueba de cloruro férrico al 10%, se logró observar una coloración amarilla. Según indica Martínez (2011), la reacción de Cloruro férrico acuoso forma también coloraciones amarillentas con los componentes fenólicos de forma general. Esto indica una reacción positiva, destacando la presencia de los flavonoides en el extracto al observarse una coloración amarilla intensa como se muestra en la figura 46.

Figura 46. Prueba Cloruro Férrico al 10% con Aceite Obtenido Empleando el Equipo Dean-Stark



Para comprobar la presencia de alcaloides se utilizó el reactivo de Dragendorff, el cual tuvo un cambio de coloración de transparente a un amarillo intenso, tal y como lo describe la teoría. Esta coloración es indicativa de una prueba positiva para dichos compuestos (figura 47).

Figura 47. Prueba con Reactivo Dragendorff al Aceite Extraído Mediante el Equipo Dean-Stark



Por otro lado, Liebermann-Burchard fue la prueba utilizada para la identificación de esteroides del aceite esencial del lirio blanco; sin embargo, no se observó ningún cambio de coloración en la muestra del aceite obtenido por medio de la extracción con el equipo Dean-Stark (figura 48).

Figura 48. Prueba Liebermann-Burchard con el Aceite Extraído Mediante el Equipo Dean-Stark



Extracción con equipo de arrastre por vapor

Esta técnica se llevó a cabo con agua como solvente, el proceso de destilación dio inicio a los 60 minutos. El destilado se recogió en un erlenmeyer de 250mL hasta completar 5 horas. La temperatura para este método debió ser más elevada que con los anteriores equipos por el tipo de solvente utilizado. Debido a esto, la temperatura se mantuvo en 350 °C, según el marcador del calentador.

Una vez completadas las horas de extracción, se trasvasó al balón de 500mL del rotavapor. Se calentó a 100 grados Celsius y se inició la rotación a 52 rpm (figura 49). Una vez transcurrido 4 horas, se detuvo el equipo y se procedió a eliminar con sulfato de sodio anhidro cierta cantidad de humedad del aceite esencial.

Figura 49. Rotavapor con Extracto Obtenido por Arrastre de Vapor



Con ayuda de un embudo de espiga y algodón, se trasvasó el aceite obtenido a una probeta de 5 mL. Como se observa en la figura 5, el volumen recogido fue de 3,2 mL y, a pesar del extenso proceso de purificación mediante el rotavapor, no había una confianza sobre la completa evaporación del solvente, ya que el olor del extracto mediante este método era poco percibido comparado con los aceites obtenidos por medio del equipo Soxhlet y Dean-Stark, así como una coloración transparente y líquida.

Figura 50. Aceite de *Lilium candidum* Obtenido Mediante Arrastre de Vapor

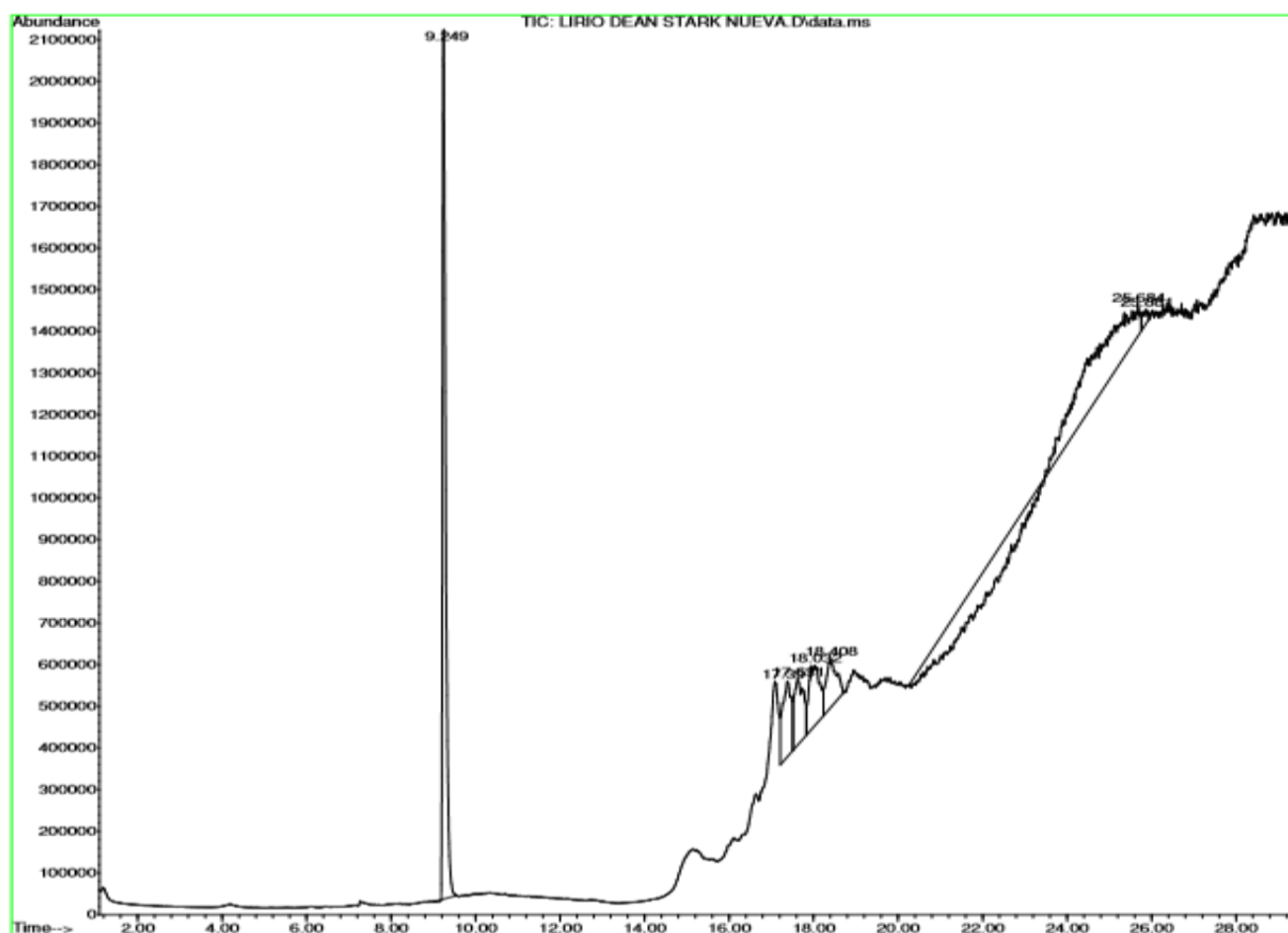


Debido a que la cantidad obtenida no presentaba un alto rendimiento y que es necesario al menos 6 mL para llevar a cabo la solución madre para las pruebas microbiológicas, el extracto obtenido por medio del arrastre de vapor fue descartado por completo. Por lo tanto, se justifica lo planteado por Eisenreichová, Haladová, Mučaji y Grančai (2004), donde es utilizado el alcohol para extraer el aceite de *Lilium candidum*, ya que produce un mejor rendimiento.

Caracterización del Aceite Esencial de los Pétalos del *Lilium candidum* Mediante Cromatografía de Gases Acoplado a Masas

Para comprobar los componentes presentes en el aceite esencial de *Lilium candidum*, se realizó un análisis por cromatografía de gases acoplado a un detector de masas (CG-MS). Esta técnica se considera confiable y eficaz para identificar y determinar la proporción de componentes de un analito.

Figura 51. Caracterización Espectroscópica Mediante Cromatografía de Gases Acoplado a Masas del Aceite Esencial de *L. candidum* Extraído con el Equipo Dean-Stark



**Figura 52. Resultados Obtenidos Mediante el Análisis por Cromatografía de Gases
Acoplado a un Detector de Masas del Aceite Esencial de *L. candidum* Extraído Mediante el
Equipo Dean-Stark**

Peak Number: 1 at 9.252 min Area: 105863972 Area % 48.66

The 3 best hits from each library.

	Ref\#	CAS\#	Qual
C:\Database\NIST08.L			
1 Diethyl Phthalate	75930	000084-66-2	97
2 Diethyl Phthalate	75932	000084-66-2	96
3 Phthalic acid, cyclohexylmethyl ...	129084	1000309-10-0	78

Como se observa en la figura 51, el mayor componente presente en el aceite extraído mediante el equipo Dean-Stark es visible a los 9,2 minutos, el cual corresponde al ftalato de dietilo, con una probabilidad de un 97% luego de ser comparado con la biblioteca de datos (figura 52).

El ftalato de dietilo es un metabolito proveniente del grupo de los esterés, muy utilizado en cosméticos como plastificante en los esmaltes de uñas y lacas, así como estabilizante en perfumes y colorantes. Este componente es el único aprobado por la legislación europea en el anexo II del reglamento 1223/2009, para ser utilizado en productos cosméticos, debido a que los ftalatos suelen ser tóxicos y nocivos para la salud (PubChem, 2005, párr.1-5).

Figura 53. Caracterización Espectroscópica Mediante Cromatografía de Gases Acoplado a Masas del Extracto de *L. candidum* Extraído con el Equipo Soxhlet

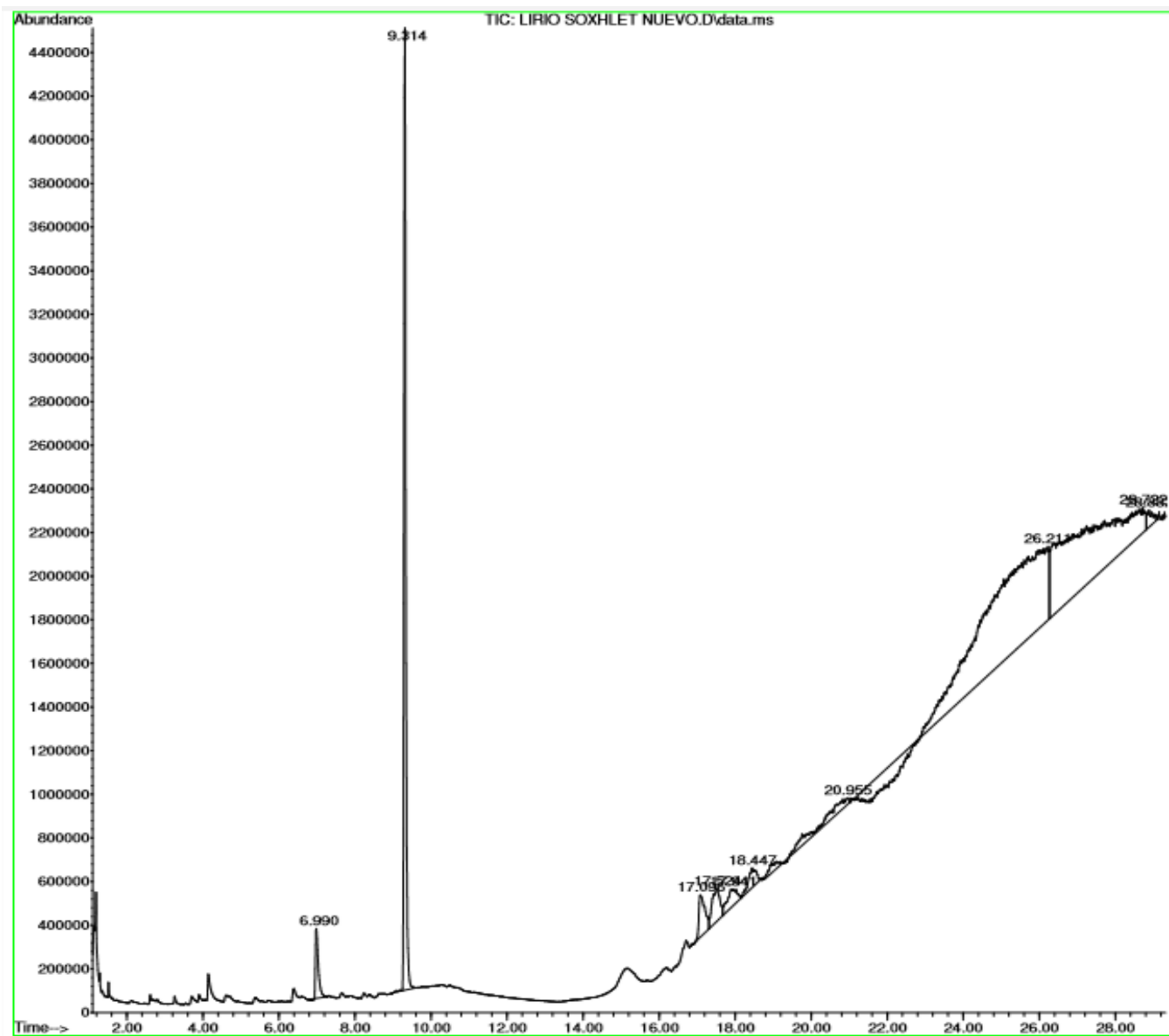


Figura 54. Resultados Obtenidos Mediante el Análisis por Cromatografía de Gases Acoplado a un Detector de Masas del Extracto de *L. candidum* Extraído Mediante el Equipo Soxhlet

The 3 best hits from each library.	Ref\#	CAS\#	Qual
C:\Database\NIST08.L			
1 2-Methoxy-4-vinylphenol	24018	007786-61-0	91
2 Benzene, 2-methoxy-1,3,4-trimethyl-	23409	021573-36-4	59
3 o-Isopropylanisole	23311	002944-47-0	59

Por otro lado, la figura 54 muestra el componente de mayor proporción en el aceite extraído mediante el equipo Soxhlet, determinado a los 9,3 minutos a una mayor absorbancia que el ftalato de dietilo. El metabolito activo, probable en un 91%, corresponde al 2-metoxi-4-vinilfenol (figura 54). Según indican López, López y Palou (2014), el 2-metoxi-4-vinilfenol es un componente antioxidante, perteneciente al grupo de los fenoles (p.53).

Análisis del Aceite de Pétalos del *Lilium candidum* Mediante Espectroscopia Infrarroja

Se procedió a realizar un análisis utilizando un espectrómetro infrarrojo para la muestra de aceite esencial del *L. candidum* obtenido mediante el equipo Soxhlet y Dean-Stark. Es importante mencionar que la prueba se realizó con las muestras frescas, esto para garantizar que no absorbiera agua, dado que esta interfiere en el espectro de absorción por la formación de una banda ancha que enmascara u oculta bandas de absorción de los componentes.

Figura 55. Espectro Infrarrojo del Aceite Esencial de *L. candidum* Extraído Mediante el Equipo Dean-Stark

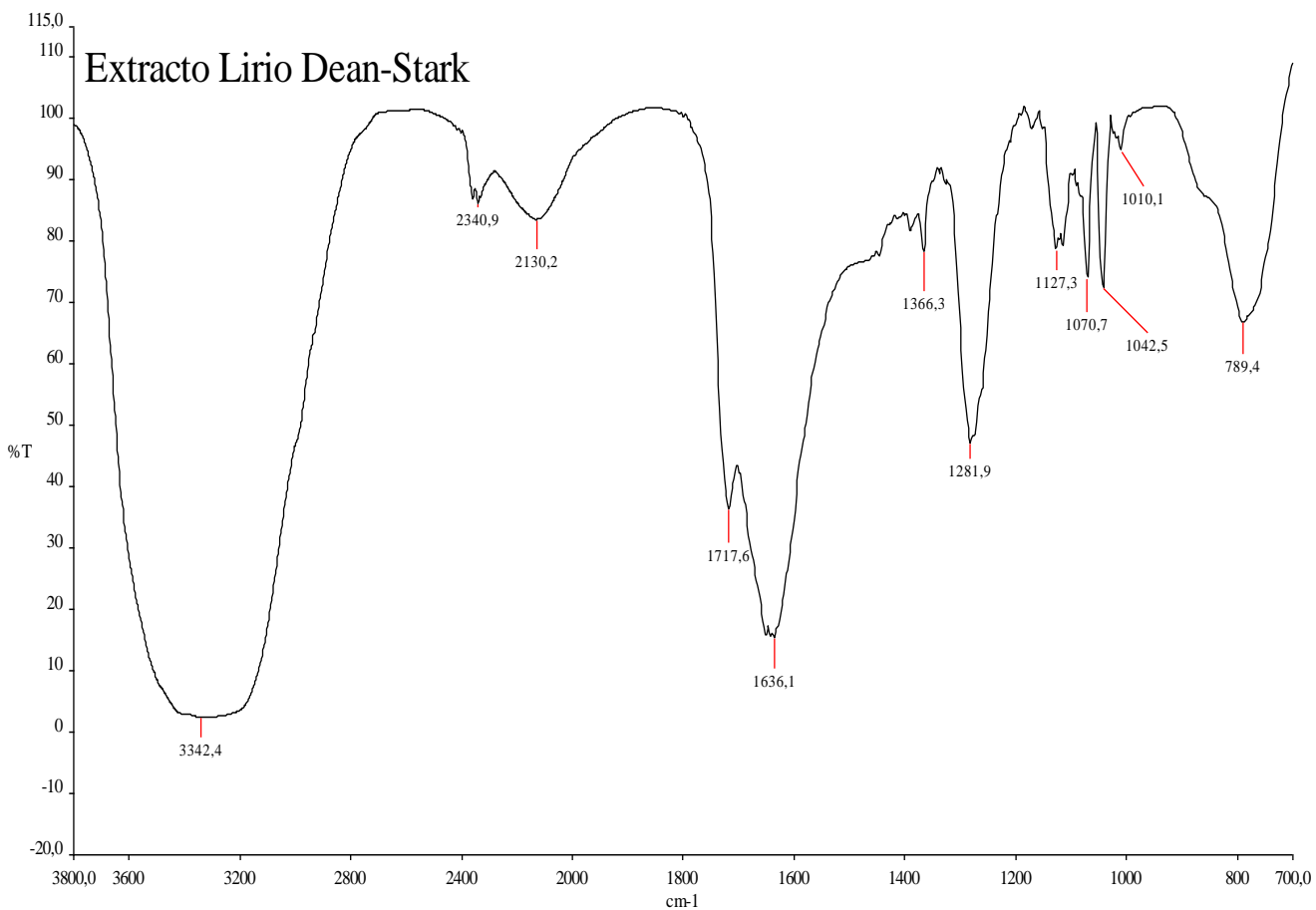
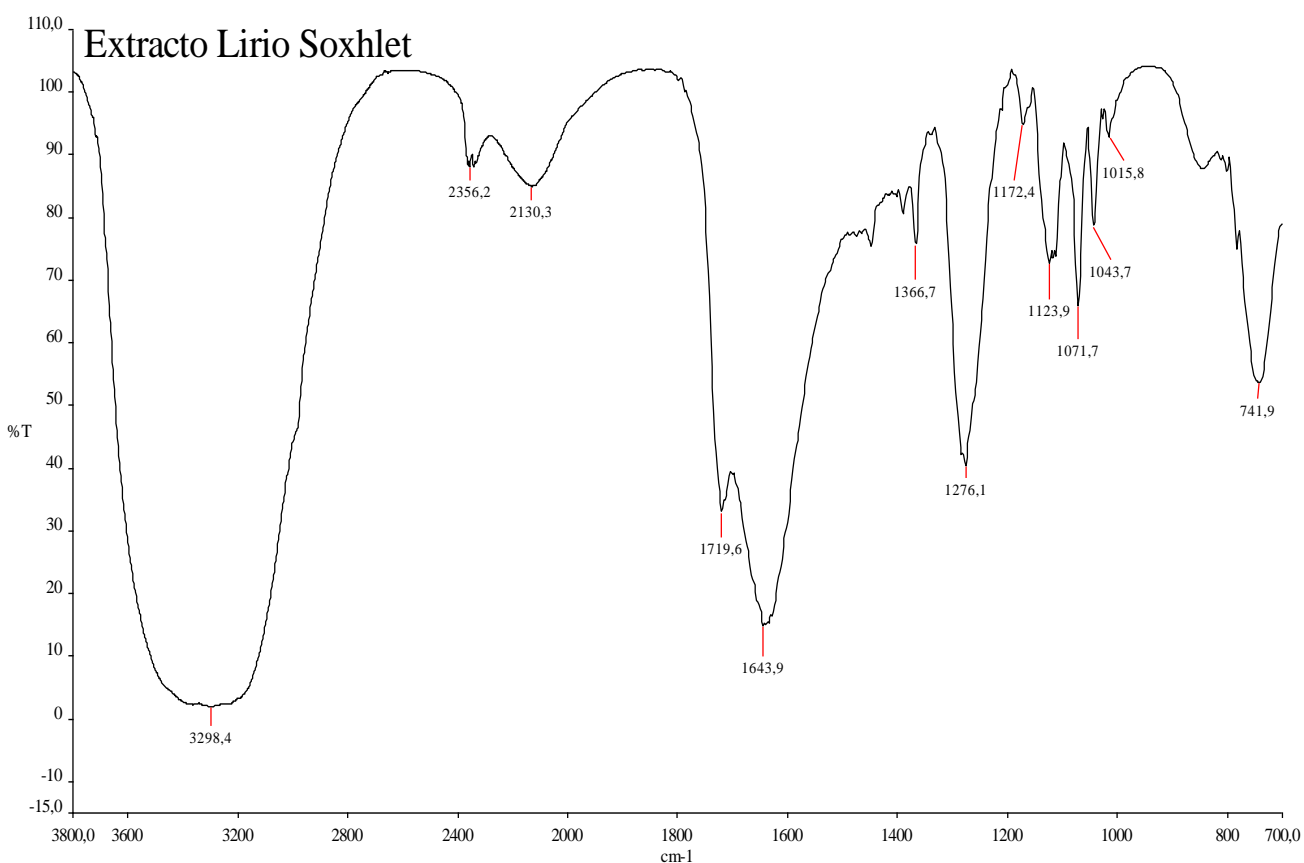


Figura 56. Espectro Infrarrojo del Extracto de *L. Candidum* Extraído Mediante el Equipo Soxhlet



No se observaron diferencias significativas entre los dos métodos de extracción utilizados con respecto a los grupos funcionales presentes en el extracto de los pétalos de *L. candidum* (figuras 55 y 56). La tabla 4 muestra las señales obtenidas en ambos espectros y el componente al cual pertenece cada señal, los cuales evidencian la presencia de los grupos funcionales en los flavonoides reportados por la literatura, que han sido analizados por sus efectos antibacterianos en otras plantas.

Tabla 4. Descripción y Asignación de las Bandas de Absorción Obtenidas por Espectroscopia Infrarroja del Aceite Esencial de *L. candidum*

Señal detectada con el método de extracción Dean-Stark (cm ⁻¹)	Señal detectada con el método de extracción Soxhlet (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Rango de señal teórica (cm ⁻¹)
3342	3298	O-H Alcohol	3200-3400
1717	1719	C=O Carbonilo	1670-1780
1636	1643	C-C aromático	1500-1600
1281	1276	C-O	1200-1300

En la espectroscopia infrarroja se observan los grupos funcionales asociados a los flavonoides que, según la teoría, son los principales componentes de los pétalos del lirio blanco, aparte de los alcaloides. Los resultados obtenidos en las pruebas líquidas de identificación comprueban la presencia de estos metabolitos en el aceite esencial extraído por ambos métodos. Las señales del espectro infrarrojo son consistentes con los metabolitos reportados por la literatura, los cuales son la isoramnetina, kaempferol y la quercetina; sin embargo, ciertos grupos funcionales de las estructuras detectadas por cromatografía de gases pueden ser también las representadas en las señales del infrarrojo.

Por otro lado, en la caracterización espectroscópica mediante cromatografía de gases acoplado a masas, no se evidencian los flavonoides reportados por la literatura, ya que los

compuestos determinados a los tiempos de retención respectivos no se asocian a dichos metabolitos.

A pesar de que la cromatografía de gases no detectó los flavonoides descritos por la literatura, las señales del espectro infrarrojo y las pruebas líquidas de identificación evidencian la presencia de los grupos funcionales de estos componentes en el aceite esencial del *Lilium candidum*. Esto podría deberse a una descomposición de los componentes, de modo que no son identificados en el análisis, la descomposición puede ocurrir debido al calentamiento que experimenta la mezcla inyectada dentro del cromatógrafo.

Determinación de la Posible Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *L. candidum* sobre el *S. aureus* Mediante el Método de Difusión en Agar

Para realizar las pruebas microbiológicas del aceite esencial obtenido utilizando el equipo Dean-Stark y Soxhlet, se prepararon diluciones a partir de una concentración madre de 200mg/mL. Las concentraciones realizadas se observan en la tabla 3, página 77.

Pruebas microbiológicas

Para dar inicio con las pruebas de sensibilidad se trabajó en el laboratorio Microlabs, ubicado en Guadalupe, donde se cultivó el caldo de la cepa de *Staphylococcus aureus* con el número interno 106, el cual corresponde al código ATCC 25923.

Se preparó en dos placas de Petricon el medio de cultivo agar nutritivo o Mueller-Hinton, en una cámara de flujo laminar (figura 57). Luego se realizaron tres agujeros con ayuda de la punta de una micropipeta. En estos agujeros es donde se procede a impregnar más adelante las soluciones del aceite esencial que se desea estudiar.

Posterior a realizar los agujeros, se llevó a cabo un barrido en tres direcciones distintas con el caldo previamente cultivado, con ayuda de un hisopo estéril, con la finalidad de cubrir por completo el medio de cultivo con la cepa y que se diera un crecimiento uniforme.

Figura 57. Materiales para Preparar Cultivo de *S. aureus* en la Cámara de Flujo Laminar



Se decidió iniciar las pruebas con la concentración madre de 200mg/mL y dos diluciones, las cuales fueron de 5mg/mL y 9,5mg/mL (figura 58), para determinar si era funcional o no probar todas las concentraciones realizadas. Por último, con la ayuda de una micropipeta de 5 μ L se inyectaron las soluciones a las placas y se llevaron a una incubadora a 35 °C por 24 horas, con el fin de favorecer el crecimiento bacteriano y determinar si se produciría un halo de inhibición.

Figura 58. Concentraciones del Aceite de Lirio Blanco Utilizadas para Prueba de Sensibilidad Bacteriana



Pasadas las 24 horas, se sacaron las placas de la incubadora para observar el comportamiento de las disoluciones sobre las Placas de Petri en el medio de cultivo. Como se muestra en las figuras 59 y 60, no se determinaron halos de inhibición para ninguna de las seis muestras que se llevaron a cabo como prueba.

Figura 59. Resultado de la Prueba de Sensibilidad Microbiana de *S. aureus* con Soluciones del Extracto de *L. candidum* Obtenidas por el Equipo Soxhlet



Figura 60. Resultado de la Prueba de Sensibilidad Microbiana de *S. aureus* con Soluciones del Aceite de *L. candidum* Obtenidas por el Equipo Dean-Stark



La abertura que se observa en la placa de la figura 60 podría deberse a la deshidratación del medio de cultivo al ser sometido en la incubadora; sin embargo, esto no interfiere con los resultados desarrollados.

Por lo tanto, debido a que se probó la solución madre, que resulta ser la más concentrada, y no se observó ningún resultado positivo, permite indicar que ninguna de las disoluciones que se llevaron a cabo funcionaría. Por esto, no se realizaron más pruebas para determinar su actividad antimicrobiana.

Queda en evidencia que las propiedades presentes en el aceite esencial de los pétalos del *L. candidum* extraído mediante el equipo Soxhlet y el equipo Dean-Stark, no es capaz de producir un efecto antibacteriano frente a *S. aureus*.

Prueba de catalasa

Para corroborar que el crecimiento de la placa fue de un estafilococo, se realizó la prueba de catalasa que, tal y como lo mencionan Zendejas, Ávalos y Soto (2014), es una prueba que permite identificar la presencia de *Staphylococcus aureus*, debido a la liberación de burbujas que se observan al agregar una solución de peróxido de hidrógeno sobre las colonias del microorganismo (p.136).

Como se muestra en la figura 61, se realizó un raspado de cada uno de los cultivos elaborados y se les agregó una gota de peróxido de hidrógeno. La catalasa presente en el *S. aureus* reacciona con el peróxido de hidrógeno y se produce oxígeno, el cual se libera mostrando el burbujeo. El resultado de esta prueba, según lo descrito en la literatura, fue positivo, al desarrollarse un burbujeo inmediatamente después de agregar el peróxido de hidrógeno a la muestra de las colonias.

Figura 61. Prueba de Catalasa para cada Cultivo de *S. aureus*



Comparación de la Capacidad Antibacteriana que Presenta el Aceite Esencial de *Lilium candidum* con los Resultados del Aceite de *Salvia officinalis*

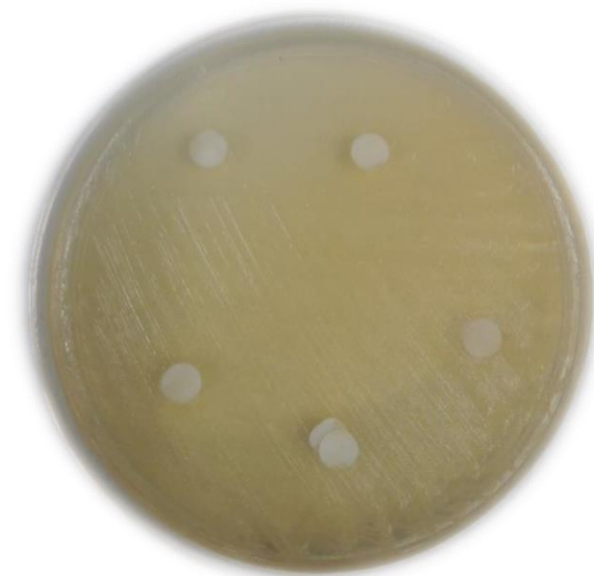
Contrario al *Lilium candidum*, la *Salvia officinalis* posee múltiples estudios que evidencian la capacidad antibacteriana que presentan los componentes de esta planta. Por ello, tanto la literatura como el estudio realizado por Blanco (2017) determinan experimentalmente que el aceite esencial de la *S. officinalis* presenta la capacidad de inhibir el crecimiento del *S. aureus*.

Tabla 5. Comparación de los Halos de Inhibición Obtenidos de las Soluciones de 5mg/mL y 9,5mg/mL para Ambas Plantas

Concentración (mg/mL)	Halo de inhibición de <i>Salvia officinalis</i> (mm)	Halo de inhibición de <i>Lilium candidum</i> (mm)
5	0	0
9,5	16,6	0

Como se observa en la tabla 5, ambas plantas obtuvieron un resultado negativo al utilizar las soluciones de 5mg/mL, ya que no se observó ningún halo de inhibición en las placas del cultivo. La figura 62 muestra los resultados de la *Salvia officinalis*; y las figuras 59 y 60, las del *Lilium candidum* rotulada con el número 2 en la placa.

Figura 62. Resultado Negativo del Cultivo con el Aceite de *Salvia officinalis* a 5mg/mL



Nota: Blanco (2017)

Lo contrario se observó al realizar la prueba con la concentración de 9,5mg/mL de *S. officinalis*, en la cual se determinó un halo de inhibición considerable, como se detalla en la tabla 5 y en la figura 63; por otra parte, para el *L. candidum* no se logró determinar ningún halo alrededor de la solución.

Figura 63. Resultado de la Concentración de 9,5mg/mL del Aceite de *S. officinalis*



Nota: Blanco (2017)

Debido al resultado positivo obtenido por la solución de 9,5mg/mL del aceite esencial de *S. officinalis*, se continuó evaluando las demás concentraciones elaboradas. Por el contrario, las soluciones de *L. candidum* no se evaluaron por la falta de inhibición que presentó con cada muestra elegida para determinar su eficacia. Las figuras 59 y 60 muestran enmarcadas con el número 1 la solución más concentrada, la cual debió dar un halo de inhibición que permitiría avanzar con las diluciones realizadas; sin embargo, al no observarse tal halo, se decidió no evaluar las demás concentraciones.

Tabla 6. Resultados Obtenidos de los Halos de Inhibición del Aceite de *S. officinalis*

Concentración (mg/mL)	Halo de inhibición (mm)
0,5	0
1	0
2	0
3	0
4	0
5	0
6	0
7	0
7,5	0
8	0
8,5	11

9,5	16,6
-----	------

A pesar de que la literatura indica que la inhibición con el aceite esencial *S. officinalis* se observa a partir de 4 mg/mL, la parte experimental demuestra que se requiere de una concentración más elevada para determinar la formación de halos de inhibición. Como muestra la tabla 6, fue a partir de 8,5 mg/mL que se logró obtener un halo de inhibición notorio en el cultivo (figura 64).

Figura 64. Halos de Inhibición Obtenidos a 8,5mg/mL del Aceite de *S. officinalis*



Nota: Blanco (2017)

Esto deja evidencia de que la *Salvia officinalis* es un potencial fitofármaco para ser utilizado como antibiótico, ya que al inhibir considerablemente una cepa de *S. aureus*, conociendo su alta capacidad de resistencia, se lograría una alta eficacia al erradicar infecciones que proceden de este microorganismo. En el *Lilium candidum*, a pesar de ser una planta con múltiples beneficios para la piel, queda claro que la capacidad antibacteriana no se encuentra dentro de los posibles efectos positivos de sus pétalos.

Por otro lado, para determinar si el efecto antibacteriano resultó negativo debido a la cepa de *S. aureus* o si en realidad el aceite de los pétalos del *L. candidum* no presenta este beneficio, se procedió a analizar el aceite con *Escherichia coli*.

Se preparó una concentración de 200mg/mL con cada método de extracción. En el laboratorio Microlabs se llevaron a cabo los respectivos cultivos e inoculación de las concentraciones en Placas de Petri con un medio agar aerobio nutritivo. Se realizaron dos hoyos en dos Placas de Petri; posterior a esto, se realizó un barrido del microorganismo con un hisopo estéril en una cámara de flujo laminar. Luego se agregó 5µL de la concentración de 200mg/mL en cada hoyo; dicho procedimiento se llevó a cabo en ambas placas, en una placa con el aceite obtenido mediante el equipo Soxhlet y en otra con el obtenido en el equipo Dean-Stark.

Figura 65. Resultado de la Prueba de Sensibilidad Microbiana de *E. coli* con Soluciones del Extracto de *L. candidum* Obtenidas por el Equipo Soxhlet

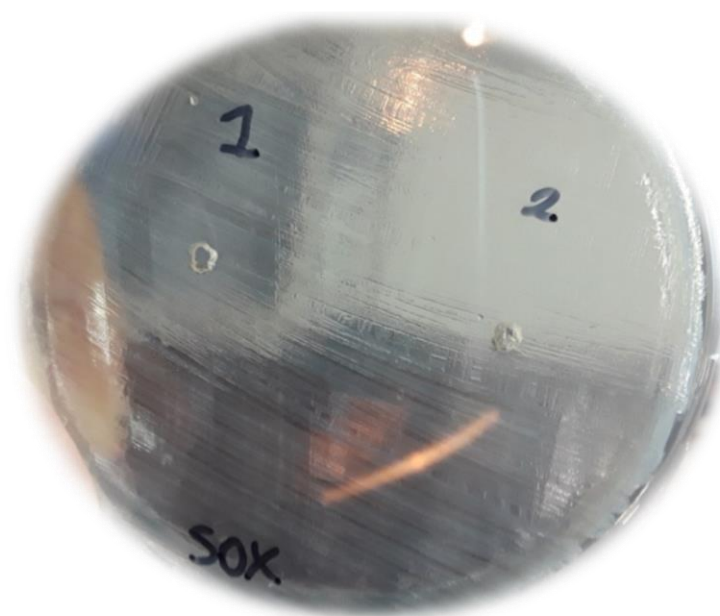


Figura 66. Resultado de la Prueba de Sensibilidad Microbiana de *E. coli* con Soluciones del Aceite de *L. candidum* Obtenidas por el Equipo Dean-Stark



Transcurridas 24 horas de incubación, no se evidenció la presencia de halos de inhibición, tal y como se muestra en las figuras 65 y 66. Por lo tanto, se puede confirmar que el aceite esencial de los pétalos de *Lilium candidum* no presenta efecto antibacteriano frente a *E. coli* ni *S. aureus*. Por lo tanto, los flavonoides reportados por la literatura no se encuentran en una cantidad suficiente para ser detectados por la cromatografía de gases ni para inhibir el crecimiento bacteriano de éstos microorganismos.

A pesar de los resultados negativos, esta investigación representa un gran aporte a la investigación de plantas medicinales, debido a que llena un vacío existente con respecto a la actividad antimicrobiana del *Lilium candidum*. Por otro lado, permite a futuros investigadores tener presente los métodos de extracción y el solvente que presenta mayor rendimiento para obtener el aceite esencial de los pétalos del lirio blanco.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Se determinó que el método de extracción con mayor rendimiento fue el equipo Soxhlet, por el cual se obtuvieron 47mL de aceite esencial puro.

El método de extracción por arrastre de vapor no es eficiente para esta planta, ya que el rendimiento es muy bajo, dando 3 mL de aceite esencial, luego de un proceso de extracción y purificación muy largo comparado con los demás métodos.

Las componentes de los pétalos del lirio blanco determinados por cromatografía de gases, en esta investigación, no son los descritos por la literatura.

Se demostró el crecimiento bacteriano del *Staphylococcus aureus* presente en el cultivo de agar nutritivo, mediante la prueba de catalasa, al observarse desprendimiento de oxígeno en forma de burbujas.

No se observaron halos de inhibición contra el *Staphylococcus aureus* con el aceite esencial de *Lilium candidum*, lo cual indica que la muestra vegetal empleada en este estudio, no presenta propiedades antibacterianas frente a este microorganismo.

La *Salvia officinalis* demostró una capacidad antimicrobiana a partir de la concentración de 8,5 mg/mL contra el *S. aureus*.

La *Salvia officinalis* demuestra una inhibición antibacteriana, mientras que el *Lilium candidum* no presenta esta actividad frente al *S. aureus*.

El aceite esencial de los pétalos de lirio blanco no presenta propiedades antibacterianas frente a *Escherichia coli*, debido a que no se observaron halos de inhibición contra este microorganismo.

La espectroscopia infrarroja y las pruebas líquidas de identificación detectaron la presencia de grupos funcionales correspondientes a los flavonoides reportados por la literatura; sin embargo, no fueron detectados por cromatografía de gases ni inhibieron el crecimiento bacteriano del *S. aureus* y *E. coli*.

Esta investigación representa un gran aporte a la investigación de plantas medicinales, debido a que llena un vacío existente con respecto a la actividad antimicrobiana del *Lilium candidum*.

Los métodos de extracción utilizados durante esta investigación, les permite a futuros investigadores, conocer las técnicas de mayor rendimiento para obtener el aceite esencial de *L.candidum*.

Recomendaciones

Lavar adecuadamente la cristalería donde se guardarán las muestras y secarlas completamente para evitar la incorporación de humedad que pueda favorecer el crecimiento bacteriano.

Analizar el efecto antibacteriano del aceite esencial de los pétalos de *L. candidum* a una mayor concentración frente a otros microorganismos, obteniendo las flores en otra zona del país.

Actualizar las investigaciones sobre las propiedades que presentan las flores del *Lilium candidum* descritas por la literatura, como la actividad antifúngica y antiviral.

Llevar a cabo las pruebas de cromatografía de gases y espectroscopia infrarroja con la muestra del aceite esencial fresca, para que la absorción de humedad que se presenta al ser almacenada por largos periodos no afecte los resultados.

Proteger de la luz y la humedad cada una de las muestras, además de mantenerlas en recipientes herméticos con tapas libres de polímeros orgánicos que pueden disolverse e incorporarse a la muestra de aceite esencial y afectar las pruebas de identificación.

REFERENCIAS

- Acofarma. (2013). Fichas De Información Técnica Benzoílo Peróxido Acofarma. S.A. Recuperado de http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/4167ab8da0f0e3915d95870268660f970c3b869987a5/main/files/Benzo__lo_per__xido.pdf
- Álamo, A. (2018). *Qué es el rotavapor y como se usa*. Recuperado de <http://www.bonviveur.es/preguntas/que-es-el-rotavapor-y-como-se-usa>
- Alvarado, V.; Mora, M.; Arias, M.; Rojas, N. y Chaves, C. (2011). *Resistencia antimicrobiana de cepas de Staphylococcus aureus*, Costa Rica. *Costa Rica* 20(2).
- Arango, M. C. (2006). *Plantas Medicinales. Botánica de interés médico*. Recuperado de <https://books.google.co.cr/books?id=fefaqvwHHoYC&pg=PA76&dq=lilium+candidum&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiyt6xoP7ZAhXPwFkKHVv2CiQQ6AEIJjAA#v=onepage&q&f=false>
- Arenas, R. (2015). *Dermatología. Atlas, diagnóstico y tratamiento*. Recuperado de <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1538§ionid=102305969&jumpsectionID=102305990>
- Ávalos, A (3 de mayo de 2015). Bacterias infectan a 5.000 al año en hospitales de CCSS. *La Nación*. Recuperado de <https://www.nacion.com/el-pais/salud/bacterias-infectan-a-5-000-al-ano-en-hospitales-de-ccss/K7JKHOHI2JD2FMVXJDZ3NKK4EI/story/>
- Badiee, P., Nasirzadeh, A. y Motaffaf, M. (2012). Comparison of Salvia officinalis L. essential oil and antifungal agents against candida species. *Journal of Pharmaceutical Technology & Drug Research*. doi: 10.7243/2050-120X-1-7

- Baj, T., Ludwiczuk, A., Sieniawska, E., Skalicka-Woźniak, K., Widelski, J., Zieba, K., & Głowniak, K. (2013). GC-MS analysis of essential oils from *Salvia officinalis* L.: comparison of extraction methods of the volatile components *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 70(1), 35-40. Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Tomasz_Baj/publication/235924229_GC-MS_analysis_of_essential_oils_from_Salvia_Officinalis_L_Comparison_of_extraction_methods_of_the_volatile_components/links/554c9c670cf29f836c995665/GC-MS-analysis-of-essential-oils-from-Salvia-Officinalis-L-Comparison-of-extraction-methods-of-the-volatile-components.pdf
- Ballesteros, P., Claramunt, R., Sanz, D. y Teso, E. (2013). *Química Orgánica Avanzada*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouiasp/reader.action?docID=3217733&query=saponinas>
- Blanco, E. (2017). *Estudio de la capacidad antibacteriana del aceite esencial de Salvia officinalis obtenido por el método de hidrodestilación contra Staphylococcus aureus*. (Tesis de Licenciatura en Farmacia). Universidad Internacional de las Américas, San José, Costa Rica.
- Brooks, G., Carroll, K., Butel, J., Morse, S. y Mietzner, T. (2011). *Microbiología Médica*. Recuperado de http://redlagrey.com/files/Microbiologia_Medica_Jawetz_25_www.rinconmedico.smffy.com.pdf
- Bush, L., Schmidt, C. y Pérez, M. (2018). *Infecciones por estafilococos*. Recuperado de <http://www.msmanuals.com/es-cr/professional/enfermedades-infecciosas/cocos-grampositivos/infecciones-por-estafilococos>.

- Cardelús, R., Galindo, C. y García, A. (2013). *Anatomofisiología y patología básica*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=3217415&query=anatomia+de+la+piel>
- Carrada, G. y Castañón, C. (2017). Quercetina atenúa la virulencia de *Staphylococcus aureus* al disminuir la secreción de alfa toxina. *Revista Argentina de Microbiología*, 50(2), 131-135. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.1016/j.ram.2017.07.002>
- Carroll, K., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T., McKerrow, J. y Sakanari, J. (2016). *Microbiología Médica*. Recuperado de <http://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1837§ionid=128955502>
- Carvajal, G., Estrada, C., Cordero, J., Valverde, D., Badilla, G., Barrantes, E. y Briceño, L. (2010). Análisis de hemocultivos obtenidos de pacientes del Hospital San Juan de dios en el periodo de mayo a octubre de 2009. *Revista Médica*, 4(10), 84-90.
- Casado, M., Torrico, G. y Medina, M. (2012). *Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología*. Recuperado de <https://libroslaboratorio.files.wordpress.com/2012/09/medios-de-cultivo-en-un-laboratorio-de-microbiologc3ada.pdf>
- Castro, A. (2014). *Bacteriología médica basada en problemas*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=3226150&query=forunculo>
- Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC). (2017). *Preguntas y respuestas sobre la resistencia a los antibióticos*. Recuperado de <https://www.cdc.gov/antibiotic-use/community/sp/about/antibiotic-resistance-faqs.html>

- Cervantes, E., García, R. y Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica*, 61(1), 28-40. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
- Cipriani, I. y Rivera, M. (2009). Detección de alcaloides en la piel de cuatro especies de anfibios ecuatorianos (Anura: Dendrobatidae). *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, XXX(1-2), 42-49. Recuperado de <http://remcb-puce.edu.ec/index.php/remcb/article/view/72/493>
- Claramunt, R., Farrán, M., López, C., Pérez, M. y Gutiérrez, D. (2013). *Química Bioorgánica y Productos Naturales*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=3216999&query=aponinas>
- Clavo, L. y Ramírez, S. (2002). *Composición química de órganos de cobayos de las alturas*. (Tesis de Químico Farmacéutico, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú). Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/Tesis/Salud/Ramirez_V_S/t-completo.pdf
- Contreras, A. y Molero, M. (2011). *Ciencia y Tecnología del medio ambiente*. Recuperado de https://books.google.co.cr/books?id=xtvNPP8X6KAC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Dandy, D. y Edwards, D. (2011). *Ortopedia y Traumatología*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=3218040&query=Panadizo>
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). (s.f.). *Plants Database*. Recuperado de <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=LICA22>
- EcuRed. (s.f.). *EcuRed*. Recuperado de <https://www.ecured.cu/Prop%C3%B3leo#Fuente>

EcuRed. (s.f).Antonie Van Leeuwenhoek. Recuperado de https://www.ecured.cu/Antonie_Van_Leeuwenhoek

Eisenreichová, E., Haladová, M., Mučaji, P. y Grančai, D. (2004). The Study of Constituents of *LiliumCandidum* L. *Acta Facultatis Pharmaceuticae Universitatis Comenianae*, 51 2004, 27-37.

EOLabs (2016). *PP1420 – Baird Parker Agar with 5% Egg Yolk Tellurite*. Recuperado de <http://www.eolabs.com/product/pp1420-baird-parker-agar/>

Fayette, J. (2007). *Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano de extractos vegetales sobre el crecimiento de una bacteria y dos hongos fitopatógenos*. (Tesis de Licenciatura en Ciencias Agrícolas, Universidad Earth). Recuperado de https://www.researchgate.net/profile/Joubert_Fayette/publication/271764590_Evaluacion_in_vitro_del_efecto_antimicrobiano_de_extractos_vegetales_sobre_el_crecimiento_de_una_bacteria_y_dos_hongos_fitopatogenos/links/54d0ea450cf20323c21a11aa/Evaluacion-in-vitro-del-efecto-antimicrobiano-de-extractos-vegetales-sobre-el-crecimiento-de-una-bacteria-y-dos-hongos-fitopatogenos.pdf

Fernández, R. (2013). *Guía dermatológica para atención primaria*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=4794847&query=estafilococo>

Fonnegra, R. y Jiménez, S. (2007). *Plantas medicinales aprobadas en Colombia*. Recuperado de <https://books.google.co.cr/books?id=K8eI-7ZeFpsC&pg=PA50&dq=lilium+candidum+clasificacion+botanica&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjZ74yOmIPaAhVps1kKHcpXBmoQ6AEILDAB#v=onepage&q=lilium%20candidum%20clasificacion%20botanica&f=false>

- Galova, E.,Kopaskova, M.,Sevcovicova, A., Hadjo, L., Yankulova, B., Gregan, F., Chankova, S. y Miadokova, E. (2011). The role of antioxidants from *Lilium candidum* L. and *Salvia officinalis* L. extracts in phytomedicine. *Toxicology Letters* 205 p.1002 doi: 10.1016/j.toxlet.2011.05.236
- García, J. y Hurlé, J. (2013). *Anatomía Humana*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=3228954&query=>
- García, M. y Serrano, H. (2015). Azucena de la virgen (*Lilium candidum*) lirio o vara de san antonio (liliaceae).*TecnoAgro*, (101). Recuperado de <https://tecnoagro.com.mx/revista/2015/no-101/azucena-de-la-virgen-lilium-candidum-lirio-o-vara-de-san-antonio-liliaceae/>
- Gil, M., Gónzales, M., Orlandi, O., Ugas, K., Nicita, G. y Perozo, E. (2016). Actividad bacteriostática y bactericida de extractos etanólicos de propóleos venezolanos y europeos sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. *MedULA*, 23(2), 6-12.
- González, J. (2009). Interés farmacéutico de la *Salvia officinalis* y de la *Euphrasia officinalis*. Revista cuadernos tomas. Universidad de Salamanca. 1 pp.158-159
- González, L. (2012). Tu jardín de hierbas aromáticas. Cultivo, recolección y conservación. Recuperado de https://books.google.co.cr/books?id=qdvh4qnlZDgC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, M. (2014). *Metodología de la investigación*. México: Mc Graw-Hill.
- Higuita, F. (s.f.).*Catalasa*. Recuperado de http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/743/Bacteriologia/Pruebas_de_laboratorio/Prueba_de_catalasa.html

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2012). *Staphylococcus aureus*. Recuperado de <http://www.insht.es/RiesgosBiologicos/Contenidos/Fichas%20de%20agentes%20biologicos/Fichas/Bacterias/Staphylococcus%20aureus.pdf>

Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA). (2001). *Plantas Medicinales Aceptadas con fines terapéuticos*. Recuperado de <https://www.invima.gov.co/images/pdf/tecnovigilancia/documentos-tecnicos/PlantasMedicinales.pdf>

Ira, S. (2014). *Fisiología Humana*. Recuperado de <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2163§ionid=162707343>

Itzik, A. (2010). *Las plantas curativas*. Colombia: Arquetipo Grupo Editorial.

Jano.es (2016). *La investigación en nuevos antibióticos, clave para luchar contra las superbacterias*. Recuperado de <http://www.jano.es/noticia-la-investigacion-nuevos-antibioticos-clave-26974>

Kopaskova, M., Hadjo, L., Yankulova, B., Jovtchev, G., Galova, E., Sevcovicova, A., Mucaji, P., Miadokova, E., Bryant, P. y Chankova, S. (2011). Extract of *Lillium candidum* L. Can Modulate the Genotoxicity of the Antibiotic Zeocin. *Molecules*, 17(1), 80-97. doi:10.3390/molecules17010080

Kreuter, M. (2005). *Jadín y huerto biológicos*. Recuperado de <https://books.google.co.cr/books?id=BawSAQAAQBAJ&pg=PA183&dq=salvia+officinalis+cultivo&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjftJTHyYjaAhUNw1kKHZabBY8Q6AEILzAC#v=onepage&q=salvia%20officinalis%20cultivo&f=fals>

- Laguna, E., Gomez, M., Fos, S., Oltra, J., Cayuela, D. y Ferrer, P. (2016). Adiciones a la distribución de *Lilium candidum* L. (Liliaceae) como especie asilvestrada en las provincias de Castellón y Valencia. *Bouteloua*, (25), 112-116.
- Lamont, R., Hajishengallis, G. y Jenkinson, H. (2015). *Microbiología e inmunología oral*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=4184541&query=definicion+de+microbiologia#>
- López, L., Castaño, H. y Mejía, C. (2013). Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *salvia officinalis* L. sobre microorganismos patógenos transmitidos por alimentos. *Revista Scielo*. 35(98), 77-83.
- López, O., López, A. y Palou, E. (2014). Capacidad antioxidante de subproductos de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*). *Scielo*, 64(1), 50-58. Recuperado de <http://www.scielo.org.ve/pdf/alan/v64n1/art07.pdf>
- Madrigal, B. (2017). *Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del producto aceite esencial de tomillo (Thymus Vulgaris) en el S. aureus*. (Tesis de Licenciatura en Farmacia). Universidad Internacional de las Américas, San José, Costa Rica.
- Marks, R. y Motley, R. (2012). *Dermatología*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=3218180&query=flores+normal+de+la+piel>
- Martínez, D.M. (2016). *Laboratorio de Farmacognosia, Libreta de Laboratorio*. Universidad Internacional de las Américas, San José, Costa Rica.
- Mazza, G. (s.f.). *Salvia officinalis*. Recuperado de <http://www.photomazza.com/Salvia-officinalis?lang=en>
- McMurry, J. (2008). *Química Orgánica*. México: CENGAGE Learning.

Melgarejo, V., Hillerns, I. y Narváez, C. (2011). Efectividad del uso tópico de *Salvia officinalis* en la disminución del índice gingival en sujetos con gingivitis. *Revista Clínica Periodoncia Implantol*, 4(3), 110-113.

Mendoza, N. (2008). *Farmacología Médica*. México: Editorial Médica Panamericana.

Miguel, G., Cruz, C., Faleiro, M., Simoes, M., Figueiredo, A., Barroso, J. y Pedro, L. (2010). *Aceites esenciales de la Salvia officinalis L.: efecto del tiempo de hidrodestilación en la composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana*. Recuperado de <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14786419.2010.499513?scroll=top&needAccess=true#>

Nuestro Herbario. 160 plantas medicinales. (2016). Recuperado de https://books.google.co.cr/books?id=aNAwDwAAQBAJ&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Núñez, C. (2008). *Extracciones con equipo Soxhlet*. Recuperado de <http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequiposoxhlet.pdf>

Ocampo, R., Ríos, L., Betancur, L. y Ocampo, D. (2008). *Curso práctico de química orgánica*. Recuperado de https://books.google.co.cr/books?id=qmFQ3LwymmMC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false

Ochoa, C. y Ayala, A. (2004). *Los flavonoides: apuntes generales y su aplicación en la industria de alimentos*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=3181039&query=flavonoides>

Onur, T., Hakan, A., Ramazan, M., Candan, A. y Gökhan, D. (2012). Convolvulus galaticus, Crocus antalyensis, and Lilium candidum Extracts Show Their Antitumor Activity Through Induction of p53-Mediated Apoptosis on Human Breast Cancer Cell Line MCF-7 Cells. *Journal of Medical Food*, 15(11), 1000-1005. doi: 10.1089/jmf.2012.0050.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2017). *Resistencia a los antimicrobianos*. Recuperado de www.who.int/antimicrobial-resistance/es/

Organización Mundial de la Salud (OMS). (2018). Resistencia a los antibióticos. párr.17 Recuperado de <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>

Ozores, M. (2016). *Cromatografía de gases*. Recuperado de <http://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/cromatografa-de-gases>

Pacheco, A. (2013). *La Medicina Natural en la Salud*. Recuperado de <https://books.google.co.cr/books?id=jcFbklf671kC&printsec=frontcover&dq=inauthor:%22Arturo+Pacheco%22&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjkuvisjIPZAhWIZVMKHVU7AykQ6AEIODAD#v=onepage&q&f=false>

Palacios, M. (2013). *Alcaloides*. Recuperado de http://files.uladech.edu.pe/docente/32924394/Farmacognosia_y_Fitoquimica/Sesion_14/TEMA_14.pdf

Pavani, G., Sravanthi, K. y Ramabrahama, D. (2015). Evaluation of Hepatoprotective Activity of LiliumCandium.L in Animals. *International Journal of Trends in Pharmacy and Life Sciences*, 1(4), 516-534. Recuperado de <http://ijtpls.com/wp-content/uploads/2015/11/IJTPLS-2015-Vol-14-PAVANI-7-to-5-516-534.pdf>

Penalva, N. (2014). *Farmacia Natural*. Madrid: Editorial LIBSA.

- Pino, J. (2015). *Aceites Esenciales*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouiasp/reader.action?docID=4183571&query=arastre+de+vapor>
- Pinheiro, P. (2018). *Forúnculo-Causas y Tratamiento*. Recuperado de <https://www.mdsau.de.com/es/2015/11/forunculo.html>
- Piqué, T. y Vázquez, A. (2012). Uso de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (Ftir) en el estudio de la hidratación del cemento. *Concreto y Cemento Investigación y Desarrollo*, 3(2), 62-71. Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/ccid/v3n2/v3n2a4.pdf>
- Química: materias primas para la industria. (2018). *Sulfato de sodio anhidro*. Recuperado de <https://quimicasa.com.uy/catalogo/industriales/sulfato-de-sodio-anhidro/>
- Rambabu, B. y Patnaik, R. (2016). Anti-diabetic activity of ethanolic flower extracts of *liliumcandidum.l*, *chemomilecapitula.l* and their combinations used in alloxan-induced rats. *Journal of Pharmaceutical Research and Health Sciences*, 1(1),1-6.
- Rengifo, R. (2013). Cuantificación de flavonoides en el extracto etanólico de propóleos. *Revista Farmaciencia*, 1(2), 51-56. Recuperado de www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/download/462/418
- Reyes, F., Palou, E. y López, M. (2012). Vapores de Aceites esenciales: alternativa de antimicrobianos naturales. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(1), 29-30. Recuperado de [http://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6\(1\)-Reyes-Jurado-et-al-2012.pdf](http://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6(1)-Reyes-Jurado-et-al-2012.pdf)
- Rigat, M., Vallès, J., D'Ambrosio, U., Gras, A., Iglésias, J. y Garnatje, T. (2015). Plants with topical uses in the Ripollès district (Pyrenees, Catalonia, Iberian Peninsula): Ethnobotanical survey and pharmacological validation in the literature. *Journal of Ethnopharmacology*, 164(), 162-179. doi: org/10.1016/j.jep.2015.01.055

- Ringuelet, J. y Viña, S. (2013). *Productos naturales vegetales*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouiasp/reader.action?docID=4499379&query=f> lorotánicos
- Rojas, R. (2017). *Estudio de las propiedades antisépticas y antibacteriales in vitro del aceite esencial de Cymbopogon citratus (zacate limón) en Staphylococcus* (Tesis de Licenciatura en Farmacia), Universidad Internacional de las Américas, San José, Costa Rica.
- Romero, M., Martínez, M., Rodríguez, J., Beryl, M. y Martínez, J. (2015). Cambios en la calidad poscosecha de salvia (*Salvia officinalis*) almacenada bajo condiciones de frigoconservación. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo*, 47(2), pp.53-67
- Sabalette, T. (2010). *Staphylococcus aureus*. Recuperado de http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/Staphylococcus_aureus.html
- Sánchez, E., Pérez, A., Chávez, D. y Rodríguez, C. (2005). Caracterización farmacognóstica de *Salvia officinalis* L. *Revista cubana de plantas medicinales*, 10(1). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000100005
- Santana, O., Cabrera, R., Giménez, C., González, A., Sánchez, R., Mozos, M., Rodríguez, M., Laserna, I., Usano, J. y Herraiz, D. (2012). Perfil químico y biológico de aceites esenciales de plantas aromáticas de interés agro-industrial en Castilla-La Mancha (España). *Grasas y Aceites*, 63(2), 214-222. doi:10.3989/gya.129611.
- Sejas, A., Zurita, B., Rodríguez, M., Espinoza, J. y Sejas, M. (2016). Prevalencia de *Staphylococcus aureus* en portadores nasales del personal de enfermería - hospital Viedma. *Revista Científica Ciencia Médica*, 19(1), 29-33. Recuperado de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-74332016000100006
- Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS). (2012). *Report Salvia officinalis*. Recuperado de

https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=32729#null

Stevens, A., Lowe, J. y Scott, I. (2011). *Patología Clínica*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/asp/detail.action?docID=3218126&query=figura%20impetigo>

Suárez, R. (2013). *Guía dermatológica para atención primaria*. Recuperado de <https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/asp/reader.action?docID=4794847&query=Dermatologia+Pediatria>

Tong, S., Davis, J., Eichenberger, E., Holland, T. y Fowler, V. (2015). *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603-61. doi: 10.1128/CMR.00134-14

Torales, P. (2012). *Glucósidos Cardíacos y Drogas para la Insuficiencia Cardíaca Congestiva*. Recuperado de <https://es.scribd.com/document/105165150/FARMACOLOGIA-16>

Torres, M. (2013). *Relación huésped parasito: Flora Humana Normal*. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2013.pdf>

Ugarte, J. (22 de noviembre de 2017). Infecciones hospitalarias afectan al 2% de los pacientes. *crhoy.com*. Recuperado de <https://www.crhoy.com/nacionales/infecciones-hospitalarias-afectan-al-2-de-los-pacientes/>

Vargas, J. (2016). *Análisis de las propiedades antibacterianas de dos preparados farmacéuticos tópicos a partir del extracto de propóleo de abeja*. (Tesis de Licenciatura en Farmacia) Universidad Internacional de las Américas, San José, Costa Rica.

Vega, A. (2013). *Remedios naturales: las 100 mejores plantas medicinales para tu salud*. Recuperado de

<https://ebookcentral.proquest.com/lib/biblioui/reader.action?docID=5190274&query=salvia+officinalis>

Yarmolinsky, L., Zaccai, M., Ben-Shabat, S., Mills, D. y Huleihel, M. (2009). Antiviral activity of ethanol extracts of *Ficus benjamina* and *Lilium candidum* in vitro. *New Biotechnology*, 26(6), 307-13. doi:10.1016/j.nbt.2009.08.005

Yogendra, M., Tirpude, R., Maheshwari, D., Bansal, A. y Misra, K. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of phenolic rich fraction of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves in vitro. *Food Chemistry*, 141(4), 3443-3450. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.057>

Zendejas, G., Ávalos, H. y Soto, M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed*, 25(3), 129-143. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>

APÉNDICES

Fórmula para preparar las soluciones del aceite esencial de *Lilium candidum*

La fórmula empleada es la siguiente: $C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$

C_1 = Concentración de solución madre 200mg/mL

V_1 = Incógnita

C_2 = Concentración requerida

V_2 = Balón de 25 mL