



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
DE CHIMBOTE
FILIAL TRUJILLO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL ACEITE
ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Ocimum basilicum* L.
(ALBAHACA) FRENTE A CEPAS DE *Escherichia coli*.**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR:

Bach. OSWALDO NATIVIDAD ROJAS REYES

ASESOR:

Mgtr. CÉSAR ALFREDO LEAL VERA

TRUJILLO – PERÚ

2018

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

Miembro

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

Docente Tutor Investigador

AGRADECIMIENTO

A Dios por bendecirme con salud, protegerme y guiarme para seguir adelante en el destino de mi vida con valentía y por brindarme la oportunidad de poder obtener una formación profesional.

A mi esposa, Edith por creer en mi capacidad, que con sus palabras de aliento no me dejó decaer para seguir adelante hasta cumplir con mis objetivos trazados.

A mis diferentes docentes de ULADECH, que durante estos cinco años me supieron transmitir conocimientos acompañado de valores y sabiduría, para lograr que este sueño se haga realidad.

DEDICATORIA

*A mi padre Milser y hermanos,
porque siempre están conmigo en
los momentos más complicados
brindándome su tiempo, apoyo
incondicional y guiándome hacia el
camino de la superación.*

*A mis hijos Sandy, Yerik y Sofía por
ser mi fuente de motivación e
inspiración para poder superarme
cada día como persona y así poder
enfrentar cada obstáculo de la vida,
fortaleciéndome cada día más.*

*A mi madre, Genara que no está
presente físicamente, desde el cielo
es mi guía para que todo me salga
bien, sé que donde estés debes estar
muy orgullosa de mí.*

RESUMEN

El presente trabajo de investigación experimental, se realizó con el objetivo de comprobar el efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (Albahaca) frente a cepas de *Escherichia coli*. La muestra vegetal fue recolectada de la localidad de Pedregal, Distrito Simbal, Provincia Trujillo. La extracción del aceite esencial se realizó por el método de hidrodestilación empleando un equipo Clevenger de marca ISOLAB, seguidamente se elaboró tres concentraciones distintas de 5%; 10% y 15% en solvente Dimetilsulfoxido al 5%. Mediante el método de kirby-Bauer se evaluó su actividad biológica frente a *Escherichia coli*, observándose promedios y desviación estándar para los halos de inhibición correspondiente de 13.35 mm \pm 0.60; 13.9 mm \pm 0.17; 15.55 mm \pm 0.81 respectivamente, y que a través de la prueba estadística ANOVA se observó la diferencia significativa en el efecto antibacteriano de las tres concentraciones ($p = 0.0183$). Se concluye que el aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. si presenta actividad inhibitoria en las concentraciones de 5%; 10% y 15% frente a cepas de *Escherichia coli*.

Palabras Claves: *Ocimum basilicum* L, *Escherichia coli*, aceite esencial, efecto antibacteriano.

ABSTRACT

The present experimental research work was carried out in order to verify the in vitro antibacterial effect of the essential oil of the leaves of *Ocimum basilicum* L. (Basil) against strains of *Escherichia coli*. The vegetal sample was collected from the town of Pedregal, Simbal District, Trujillo Province. The extraction of the essential oil was carried out by the hydrodistillation method using a Clevenger equipment of the ISOLAB brand, followed by three different concentrations of 5%; 10% and 15% in solvent 5% Dimethylsulfoxide. Using the Kirby-Bauer method, their biological activity against *Escherichia coli* was evaluated, observing averages and standard deviation for the corresponding inhibition halo of $13.35 \text{ mm} \pm 0.60$; $13.9 \text{ mm} \pm 0.17$; $15.55 \text{ mm} \pm 0.81$ respectively, and that through the ANOVA statistical test the significant difference in the antibacterial effect of the three concentrations was observed ($p = 0.0183$). It is concluded that the essential oil of the leaves of *Ocimum basilicum* L. does have inhibitory activity at concentrations of 5%; 10% and 15% against strains of *Escherichia coli*.

Key Words: *Ocimum basilicum* L, *Escherichia coli*, essential oil, antibacterial effect.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	01
II. REVISIÓN DE LITERATURA	07
III. HIPÓTESIS	17
IV. METODOLOGÍA	18
4.1 Diseño de la investigación.....	18
4.2 Población y muestra.....	19
4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	21
4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos.....	22
4.5 Plan de análisis.....	26
4.6 Matriz de consistencia.....	27
4.7 Principios éticos.....	28
V. RESULTADOS	29
5.1 Resultados.....	29
5.2 Análisis de resultados.....	30
VI. CONCLUSIONES	32
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS	33
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXOS	41

ÍNDICE DE TABLAS:

Tabla 01. Evaluación de la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca), en las concentraciones de 5%,10%, y 15% frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> a las 24 horas.....	29
Tabla 02. Prueba de Actividad antibacteriana del solvente Dimetilsulfoxido al 5% frente a <i>Escherichia coli</i> , medida de halos de inhibición expresado en (mm).....	45
Tabla 03. Prueba estadística ANOVA.....	46

ÍNDICE DE GRÁFICOS:

Grafico N° 1. Comparación gráfica de las tres concentraciones de 5%,10%, y 15% del aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca).....	46
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS:

Figura N° 1: Recolección de la planta <i>Ocimum basilicum L.</i> completa.....	41
Figura N° 2: Separación de las hojas frescas de <i>Ocimum basilicum L.</i>	41
Figura N° 3: Extracción del aceite esencial de albahaca.....	41
Figura N° 4: Medición del aceite esencial extraído.....	41
Figura N° 5: Certificación de la planta <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca).....	42
Figura N° 6: Preparación del material a esterilizar.....	42
Figura N° 7: Material esterilizado: Placas Petri, matraz, varillas, etc.....	42
Figura N° 8: Boleta de la compra del agar Mac Conkey.....	43
Figura N° 9: Pesado y preparación del agar Mac Conkey.....	43
Figura N° 10: Exposición del agar Mac Conkey en el autoclave.....	43
Figura N° 11: Esterilización del área, laboratorio Microbiología.....	43
Figura N° 12: Agregado del agar Mac Conkey en las placas Petri.....	44
Figura N° 13: Incorporación de 4 discos en cada una de las placas.....	44
Figura N° 14: Agregado del aceite esencial en cada placa Petri.....	44
Figura N° 15: Lectura del aceite esencial a las 24 horas.....	44
Figura N° 16: Medición y obtención de resultados del efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum bacilicum L.</i> (albahaca) frente a cepas de <i>Escherichia coli</i>	45

I. INTRODUCCIÓN:

La utilización de las diversas plantas medicinales tiene inicio desde la aparición del hombre, es por ello que desde hace miles de años los seres humanos empleaban las plantas naturales para aliviar las diferentes enfermedades que se les presentaba en sus animales que criaban o también entre los habitantes de su comunidad, en algunos casos los brebajes administrados daban reacciones positivas mejorando así su estado de ánimo y en otras ocasiones daban reacciones negativas. Con el pasar de los años la utilización de las plantas medicinales se ha mejorado notablemente para beneficio de las siguientes generaciones. En la época antigua los seres humanos pensaban que las personas que curaban tenían poderes o que eran superdotadas para distinguir entre las plantas venenosas y las de uso medicinal para la elaboración de sus brebajes ⁽¹⁾.

La Organización Mundial de la Salud, establece que todo producto que es compuesto de principios activos extraídos de alguna parte de los vegetales o plantas naturales se les denomina definitivamente como medicamentos herbarios, además se le considera como inocuo para el ser humano ya que puede ser usado en la salud, por demostrar ampliamente su seguridad y eficacia ⁽²⁾.

En las comunidades de bajos recursos, las plantas medicinales son bastante apreciadas principalmente porque pueden adquirirse a un precio accesible, comparado al precio de los medicamentos de origen sintético. En la actualidad los medicamentos herbarios vienen generando bastante expectativa entre los pacientes que lo emplean como alternativa para aliviar su enfermedad como también entre los investigadores relacionados a la salud ⁽³⁾.

El Perú es considerado el tercer país mega diverso del planeta, lo que implica que en nuestro territorio existe un gran potencial de estudio de muchas especies vegetales, se dice que 2 000 de las aproximadamente 50 000 especies existentes han sido utilizadas con fines curativos. Las variadas condiciones climáticas y geográficas que nuestro país ofrece, permite obtener una gran variedad de flora que han sido identificadas, como también existen algunas por descubrir para luego ser utilizadas ⁽⁴⁾.

El recrudecimiento de las afecciones de origen bacteriano, fúngico y viral en muchas ocasiones no es causada por enfermedades nuevas, más bien se debe a resistencia adquirida por las distintas cepas microbianas a los medicamentos tradicionalmente usados. Es por ello que el estudio científico de las plantas medicinales es una fuente relevante para el descubrimiento de nuevos fármacos que luego se sintetizan, para ello se requiere tener un conocimiento más profundo de las plantas para evaluar si sus principios activos cumplen un rol terapéutico, es decir compuestos que igualan el nivel de los fármacos de síntesis ⁽⁵⁾.

Un análisis de las series más recientemente publicadas permite comprobar que *Escherichia coli* sigue siendo el uropatógeno predominantemente aislado, por otro lado *Escherichia coli*, incita en la humanidad de disposición de 360 millones de sucesos de cólicos (diarrea) en el planeta y más de 700.000 muertos alrededor del año, afligiendo básicamente a la humanidad infantil de ciudades en vías de crecimiento. Igualmente, es el agente infeccioso más aprovechador muy frecuente en asociación con infecciones de tracto urinario (ITU) y sepsis generalizada ⁽⁶⁾.

La planta *Ocimum basilicum L.* (albahaca), perteneciente a la familia Lamiaceae, es una hierba aromática que se produce en todo el mundo, se cree que su origen se dio en la India e Irán y luego introducida en Europa. Hoy en día ha sido ampliamente utilizada en alimentos como un agente saborizante, así como en perfumería e industrias farmacéuticas. Por otra parte, es fuente de compuestos aromáticos y aceites esenciales con constituyentes biológicos que poseen propiedades insecticidas, nematocidas, fungistáticas y antimicrobianas. Así mismo sus compuestos fenólicos y flavonoides han demostrado ser potentes antioxidantes, capturadores de radicales libres y quelantes de metales ⁽⁷⁾.

La composición química del aceite esencial de albahaca ha sido ampliamente estudiada, mostrando una gran variedad de compuestos y diferentes quimiotipos. La presencia de compuestos fenólicos en su aceite es primordial para ser usado en la industria como insecticidas, nematocidas, fungistáticos y antimicrobianos; así mismo, es utilizado como saborizante en alimentos de uso doméstico, como ingrediente activo en productos dentales y orales, en fragancias y en medicinas. En la industria farmacéutica ha sido utilizado debido a su actividad antimicrobiana y sus propiedades antioxidantes ⁽⁸⁾.

Nuevas exploraciones de nuevos principios activos relacionados como los aceites esenciales los cuales mencionados en la diferentes bibliografías por sus propiedades antimicrobianas, antimicóticas, antioxidantes, etc, siendo capaces también de actuar contra las plagas originarias en la producción de alimentos, con las grandes ventajas de no ocasionar daño a nuestro ecosistema.

Debido a que en Perú existe una gran variedad de especies vegetales lo cual constituye una de las más grandes reservas de recursos naturales, el uso de plantas medicinales data desde la antigüedad muchas veces usadas de forma empírica, formando parte de la medicina casera y tradicional transmitiéndose de generación en generación y que en la actualidad se investiga cada vez más el uso de las mismas con fines terapéuticos ya que en muchas ocasiones el uso de medicamentos como los antibacterianos causan demasiados efectos adversos a largo plazo. El uso de plantas medicinales en la actualidad es muy solicitada para curar y/o aliviar diferentes enfermedades, para lo cual el presente trabajo experimental sería una alternativa usar el *Ocimum Basilicum L.* (albahaca) como antibacteriano ⁽⁹⁾.

Por otro lado tenemos a *Escherichia coli*, lo cual se trata de una bacteria con diversas variantes. Normalmente vive en el intestino del hombre y no suele causar ningún tipo de problema, es más, es necesaria para el funcionamiento correcto del proceso digestivo. El problema aparece cuando cepas por intercambio de material genético, pueden causar infecciones urinarias como también provocar diarreas sangrantes. Debido a que en algunas investigaciones datan de la efectividad de los aceites esenciales que posee la *Ocimum Basilicum L.* (albahaca) como antibacteriano de allí parte el interés de investigar y confirmar su efectividad y así poder aportar a la salud humana como también optar por alternativas económicas y de mayor aceptación por la población peruana ⁽¹⁰⁾.

Según el informe realizado por la OMS en el 2015, se estima que los niños menores de 5 años son más afectados al representar un tercio de las muertes por enfermedades alimentarias, ocasionadas por enfermedades diarreicas. Se informa que *Escherichia coli* es un agente patógeno común en países con ingresos bajos y medianos. Las

enfermedades diarreicas suelen presentarse con mayor prevalencia en países en vías de desarrollo como es el caso de Perú, las causas más comunes se deben a rotavirus y *Escherichia coli* patógena. Este hecho agrava la malnutrición que aqueja a gran parte de la población infantil en el Perú y el mundo, ya que las enfermedades diarreicas empeoran el estado nutricional, este hecho se agudiza debido a las malas condiciones sanitarias de la población⁽¹¹⁾.

Considerando esta información sobre los efectos terapéuticos que posee el aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca), nos planteamos la siguiente interrogante.

¿El aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca), tendrá actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas de *Escherichia coli*?

La importancia del presente estudio de investigación es comprobar si el aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* ejerce la actividad antibacteriana *in vitro* sobre cepas de *Escherichia coli*, lo cual en un futuro nos permita integrarlo como tratamientos complementarios o alternativos con fines específicamente terapéuticos, debido a su gran contenido de compuestos fenólicos que contiene, como también por su bajo costo lo cual permitiría aplicarlo en distintas formulaciones para su respectivo uso según necesidad.

OBJETIVOS:

Objetivo General:

- Comprobar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca), frente a cepas de *Escherichia coli*.

Objetivos Específicos:

- Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca), en las concentraciones de 5%, 10% y 15% frente a cepas de *Escherichia coli*.
- Determinar a qué porcentaje de las diferentes concentraciones del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca), presenta mayor actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA:

2.1. Antecedentes:

Rivas et al, en el 2015 en Venezuela investigaron la composición química del aceite esencial (AE) del *Ocimum basilicum L*, por medio de Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas (CG-EM). Para ello, se trabajó con el AE provenientes de las hojas de *O. basilicum*. El AE se obtuvo por hidrodestilación. La actividad antibacteriana se evaluó utilizando cepas de *Escherichia coli*. La acción antibacteriana se cuantificó midiendo el diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de discos Whatman No 5 impregnados con el AE (50 mg/mL). La concentración inhibitoria mínima (CIM), fue determinada por dilución del AE en el intervalo comprendido entre 50 y 200 µg/mL. Identificando al isoestragol (58,33%), humuleno (5,71%), eucaliptol (4,09%) y alcanfor (1,63%) fueron los mayores compuestos volátiles, presentando halos de inhibición de 8 a 12 mm de diámetro ⁽¹²⁾.

Cifuentes et al, en el 2013 en Colombia investigaron la actividad antibacteriana de los aceites esenciales obtenidos de las hojas de *Ocimum basilicum L*. Los aceites esenciales se obtuvieron por destilación de arrastre de vapor tipo Clevenger. La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se realizó por el método de dilución en caldo, para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) y la Concentración Mínima Bactericida (MBC) a partir de diluciones dobles seriadas en un rango de concentración entre 3,12 a 0,1%; dichas concentraciones fueron enfrentadas a *Escherichia coli*. El aceite esencial de la especie *Ocimum basilicum L* presentó actividad inhibitoria frente a *Escherichia coli*. Los resultados demuestran la capacidad que tienen los aceites esenciales para inhibir microorganismos Gram negativos ⁽¹³⁾.

Rojas et al, en el 2012 en la Habana investigaron la caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *Genovese* L. El objetivo de este trabajo fue identificar las potencialidades de aceites esenciales de las hojas de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *Genovese* L. Los aceites esenciales se extrajeron por hidrodestilación empleando un equipo Clevenger. Las composiciones químicas de ambos aceites poseen similitudes, estos se caracterizan por la prevalencia de compuestos monoterpenoides oxigenados, siendo los componentes mayoritarios el linalol, eugenol y eucaliptol. Los aceites de albahaca blanca y genovesa evidenciaron una actividad antibacteriana marcada frente a todas las bacterias evaluadas *Clavibacter michiganensis* subsp *michiganensis*, *Streptococcus suis* y *Klebsiella pneumoniae* ⁽¹⁴⁾.

Hernández M, en el año 2016 en Cajamarca realizó el trabajo de investigación para determinar el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” en cepas de *Escherichia*. La muestra vegetal utilizada fueron las hojas de *Ocimum basilicum* L. para la extracción del aceite esencial; en tanto que las cepas de *Escherichia coli*, se aislaron e identificaron de muestras de orina de pacientes con infección del trato urinario del Hospital Regional de Cajamarca. Se empleó el método de Kirby-Bauer en el que se emplearon discos embebidos con el aceite esencial en concentraciones de 10%, 50% y 100%. Los resultados arrojaron que el aceite esencial de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” al 10% alcanzó un halo de inhibición promedio de 7,15 mm, al 50% un halo de inhibición promedio de 9,10 mm y al 100% un halo de inhibición promedio de 13,95 mm de diámetro. Por lo tanto, se concluye que el aceite esencial de *Ocimum basilicum* L “albahaca” tiene actividad antibacteriana in vitro frente a las cepas de *Escherichia coli* ⁽¹⁵⁾.

2.2. Bases teóricas:

a) Planta medicinal.

En la actualidad existen una variedad de plantas medicinales las cuales son aprovechadas para la elaboración de productos naturales, es por ello que una planta medicinal tiene que contener principios activos de carácter medicinal, porque de ello dependerá su efecto farmacológico para curar o aliviar una dolencia de un ser vivo, para poder emplearlo en una determinada enfermedad de un individuo, se tiene que identificar en que parte específica de la planta se puede obtener los principios activos y evaluar cuál o cuáles de los principios activos encontrados es el que más sobresale determinándose en porcentaje ya que de ello dependerá su uso terapéutico, en los últimos años las plantas se viene empleando como medicina complementaria debido a sus numerosos beneficios que proporciona al organismo es por ello que ha resurgido el interés por el regreso de la naturaleza a nuestras vidas y así optar por lo natural y evitar lo artificial ⁽¹⁶⁾.

b) Aceites esenciales.

El aceite esencial es un compuesto de gran variedad de moléculas orgánicas, son como el alma de la planta. Es una combinación exquisita, volátil e insoluble en agua y poseen muchas propiedades terapéuticas para aliviar diferentes afecciones; tienen una diversa aplicación en aromaterapia, en la industria de los cosméticos, perfumes y el área farmacéutica, entre otras. Es de vital importancia que las plantas que se usan para extracción de aceites esenciales deben provenir de cultivos orgánicos, cuidadas y recolectadas con esmero y atención ⁽¹⁷⁾.

Extracción del aceite esencial.

Existen dos métodos para extraer los aceites esenciales: Destilación por arrastre de vapor y estrujamiento, la calidad del aceite esencial influye según el método a utilizar. Para lograr una buena extracción de un aceite esencial se debe tener en cuenta la identificación correcta de que parte de la planta se va a utilizar por ejemplo si se usa las hojas, para ello se tiene que recolectar las hojas frescas después de la floración del vegetal y trasladarlo lo más antes posible al laboratorio y así evitar que las hojas se sequen perjudicando la extracción del aceite esencial de nuestro interés. En muchas ocasiones el vegetal usado tiene que ser preparado antes de la destilación porque puede estar con material que puede alterar la calidad del producto o perjudicar el proceso de extracción ⁽¹⁸⁾.

Destilación por arrastre a vapor.

La destilación por arrastre con vapores una técnica usada para separar sustancias orgánicas insolubles en agua y ligeramente volátiles, de otras no volátiles que se encuentran en la mezcla, como resinas o sales inorgánicas, u otros compuestos orgánicos no arrastrables ⁽¹⁹⁾.

Almacenamiento del aceite esencial.

El buen almacenamiento de los aceites esenciales tiene que ser en depósitos oscuros de metal o de vidrio para ser protegidos de la luz, especialmente en un lugar fresco y oscuro para evitar que la luz altere la calidad, los tapas de los frascos o depósitos deben cerrarse herméticamente, ya que el aire tiene el poder destructivo sobre el aceite, como también se debe tener en cuenta que las tapas de los depósitos deben ser los apropiados y seguros porque existen algunos

aceites esenciales que pueden llegar a disolver a algunos tipos de tapones. En muchos casos los aceites esenciales no necesitan ser diluidos para su uso terapéutico y su almacenamiento no deberá ser mayor a 5 años a partir de la fecha de su extracción porque habrá perdido algunas de sus propiedades, por lo consiguiente si se podrá dar uso después de la fecha de vencimiento ya que el único riesgo es que será de menor calidad y eficacia ⁽²⁰⁾.

Principales usos de los aceites esenciales.

Los aceites esenciales fundamentalmente tienen un alto valor comercial y se utilizan ampliamente en diferentes ramas de la industria moderna, como por ejemplo es usado en alimentos, jabones, ambientadores, perfumes, cosméticos, licores, insecticidas, fármacos, etc. Usualmente en la actualidad son considerados en distintas formulaciones de uso farmacológico como también son base de perfumes corporales y productos cosméticos finos, desodorantes, lociones, jabones líquidos, pastas dentífricas. Algunos de los aceites esenciales poseen propiedades insecticidas, fungicidas y se utilizan en los preparados especiales ⁽²¹⁾.

c) *Ocimum basilicum* L. (albahaca)

Descripción.

La *Ocimum basilicum* L. es una planta que se reconoce fácilmente por sus hojas que son de color verde y miden de 2 a 5 cm lo cual son ligeramente dentadas y expelen un intenso olor aromático. El tamaño de la planta es ligeramente pequeña con un crecimiento anual de unos 30 a 50 cm de altura, provista de tallos firmes, ramosos y cuadrados; se identifica porque posee flores de 8 a 10 mm, de color blanco o en otros

casos de color morado, agrupadas en largos ramilletes que caen precozmente al ser manipulados. Algunos investigadores consideran a esta especie como originaria de Asia tropical, aunque algunos autores afirman que es originaria de Centroamérica. Normalmente para ser cultivado se requiere de climas cálidos con terrenos fértiles, con poco éxito se puede cultivar en climas frescos. Debido a su alto valor nutricional es cultivada en los patios o jardines de las casas de campo ⁽²²⁾.

Clasificación taxonómica:

Reino: plantae

Subreino: Traqueobionta

División: Magnoliophyta

Superdivisión: Spermatophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteriadae

Orden: Lamiales

Familia: Lamiaceae

Subfamilia: Nepetoideae

Género: *Ocimum*

Especie: *Ocimum basilicum* L.

Composición química.

En la composición de *Ocimum basilicum* L. (menos de 1 %) tiene una composición compleja y variable. Dentro de esta especie existe variabilidad en el contenido de sus diversas propiedades químicas. La calidad del aceite esencial está en función a la composición de este, la cual está enormemente

influenciada por el clima, el suelo, el agua y la época de cosecha. Los componentes más importantes del aroma son el 1,8-cineol, linalol, citral, metilchavicol (estragol), eugenol y metilcinamato. Algunos investigadores refieren que el porcentaje de estragol o metilchavicol que tiene el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* es de (65-85%), linanol (hasta en un 75% en algunos quimiotipos), cineol, eugenol (20%), acetato de linalilo, flavonoides. Y en las especies africanas contienen a menudo alcanfor ⁽²³⁾.

Partes útiles de la planta.

La parte más usada de la planta son las hojas frescas donde se puede encontrar la mayor cantidad de aceite esencial, en otros casos también se puede usar las flores frescas y los tallos ⁽²⁴⁾.

Capacidad antibacterial.

En diversos estudios realizados sobre *Ocimum basilicum L.* (albahaca) se ha logrado afirmar que si cumple satisfactoriamente el efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli*, lo cual se determina su sensibilidad ante el aceite esencial de la albahaca. Para la determinación de su sensibilidad se procede a la medición de los halos de crecimiento y así poder contrastar con un medicamento antibiótico que demuestra seguridad y eficacia sobre la bacteria. *Escherichia coli* es la responsable de distintas enfermedades causadas en los seres humanos dentro de ellas tenemos la diarrea hemorrágica, Infecciones urinarias provocando una hasta deficiencia renal crónica que incluso puede causar la muerte de la persona ⁽²⁵⁾.

d) Microorganismos gastrointestinales (E coli)

Generalidades

Dentro de la flora intestinal tenemos bacterias que desempeñan una labor primordial dentro de nuestro organismo como por ejemplo sabemos que es constituyente del ciclo enterohepático de algunos medicamentos que consumimos cuando nos sentimos enfermos. Otra labor que realizan las bacterias es funcionar definitivamente como barrera, para dificultar que bacterias ajenas al organismo logren establecerse y perjudicar la salud del individuo. Es muy perjudicial cuando las bacterias logran ingresar al torrente sanguíneo en una cantidad elevada porque esto desencadenaría en el individuo trastornos demasiado graves que en algunas ocasiones puede acabar con una sepsis que si no es reconocida y tratada a tiempo adecuadamente puede llegar a consecuencias que comprometen la vida del paciente ^(11, 26).

Escherichia coli

Se trata de una enterobacteria que habita naturalmente entre los intestinos de todos los seres humanos como también de los animales, dentro de las cuales cumple el rol más relevante que consiste en suprimir o neutralizar bacterias dañinas que intentan alojarse dentro del organismo, además es el responsable de que la digestión funcione eficazmente, se puede afirmar que en la actualidad es la bacteria de más interés para los investigadores. Fue descubierta por el bacteriólogo alemán Theodore von Escherich en 1885, quien la denominó *Bacterium coli*. Dicha bacteria es importante dentro de nuestro proceso digestivo, además tiene la capacidad de sintetizar vitaminas B y K ^(11, 27).

Clasificación taxonómica:

Reino: Bacteria

Clase: Gammaproteobacteria

Orden: Enterobacteriales

Familia: Enterobacteriaceae

Género: Escherichia

Especie: Escherichia coli

De acuerdo con Scheutz, esta es la clasificación de *Escherichia coli* ⁽²⁸⁾.

***Escherichia coli* enteropatógena (ECEP)**

Fue la primera variedad de *Escherichia coli* enterovirulenta que se identificó serológicamente, esta bacteria no produce ninguna toxina, su principal factor de patogenicidad es la adherencia, la ECEP se adhiere íntimamente a la membrana de las células epiteliales, lo que se conoce como “adherencia y esfacelamiento” (A/E). La adherencia está mediada por pilis y fimbrias llamadas BfP (en inglés bundle-forming pilus). Esta variedad provoca una diarrea acuosa, con vómito, fiebre y en algunos casos acompañado de fuertes dolores y cólicos estomacales. Este grupo afecta principalmente a niños entre los seis meses y dos años de edad. La forma de transmisión de la enfermedad es por contaminación fecal - oral y los reservorios pueden ser niños y adultos con o sin síntomas ^(11, 29).

Resistencia de *Escherichia coli* a los antibióticos

Con el tiempo la utilización masiva de antibióticos ha provocado un aumento en su resistencia a la especie *Escherichia coli* a nivel mundial como también a otras bacterias. En los últimos años, se ha observado un aumento de la resistencia de esta especie a los principales antibióticos de uso clínico para el tratamiento de infecciones causadas por las cepas patógenas de *Escherichia coli*, entre los antibióticos tenemos a sulfametoxazol y trimetoprima, ciprofloxacino, tetraciclina y betalactámicos, tanto en cepas de origen humano y animal. El uso indiscriminado de los antibióticos tanto en el tratamiento de enfermedades que afectan la salud de los seres humanos, ha provocado un aumento del número de bacterias resistentes a los antibióticos ⁽³⁰⁾.

Tratamiento frente a *Escherichia coli*

Para iniciar el tratamiento frente a *Escherichia coli* se tiene que elegir qué tipo de fármaco se debe administrar para tener un resultado eficaz y seguro, para ello el médico especialista tiene la posibilidad de realizar una prueba de sensibilidad o antibiograma, que le ayuda a elegir el medicamento más efectivo y correcto contra el tipo de microorganismo que está produciendo la infección. Los antibióticos más usados frente a *escherichia coli* son el trimetoprima + sulfametoxazol y quinolonas, como son la ofloxacina y ciprofloxacino. Otros antibióticos que también se usan son las cefalosporinas entre ellas tenemos a la cefalexina, cefaclor y en especial la ceftriaxona que pertenece a las cefalosporinas de tercera generación lo cual resulta ser muy eficaz contra las infecciones producidas por *Escherichia coli* ⁽³¹⁾.

III. HIPÓTESIS:

3.1. Hipótesis alternativa:

Ha: El aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (Albahaca), presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a cepas de *Escherichia coli*.

3.2. Hipótesis nula:

Ho: El aceite esencial de las hoja de *Ocimum basilicum L.* (Albahaca), no presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente a *Escherichia coli*.

IV. METODOLOGÍA:

4.1. Diseño de la investigación.

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental, con estímulo creciente y grupo control.

Grupo control:

Consistió en agregar el solvente Dimetilsulfoxido al 5% en 5 placas con *Escherichia coli* en un medio de cultivo con agar Mac Conkey, teniendo como resultado que el solvente utilizado no tiene efecto antibacteriano frente a cepas de *Escherichia coli*

Grupo experimental 1:

Consistió en agregar aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* en la concentración de 5% en solvente Dimetilsulfoxido al 5%, en 5 placas Petri con 4 discos Whatman N° 5 en cada placa, para comprobar si el aceite esencial cumple el efecto antibacteriano sobre las cepas de *Escherichia coli*.

Grupo experimental 2:

Consistió en agregar aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* en la concentración de 10% en solvente Dimetilsulfoxido al 5%, en 5 placas Petri con 4 discos Whatman N° 5 en cada placa, para comprobar si el aceite esencial cumple el efecto antibacteriano sobre las cepas de *Escherichia coli*.

Grupo experimental 3:

Consistió en agregar aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* en la concentración de 15% en solvente Dimetilsulfoxido al 5%, en 5 placas Petri con 4 discos Whatman N° 5 en cada placa, para comprobar si el aceite esencial cumple el efecto antibacteriano sobre las cepas de *Escherichia coli*.

4.2. Población y muestra.

a) Población vegetal.

La planta *Ocimum basilicum L.* (albahaca) fue recolectada de forma completa (raíz, tallo, hojas, y flores) en la localidad de Pedregal donde actualmente se viene cultivando, dicho lugar pertenece al Distrito: Simbal, Provincia: Trujillo, Departamento: La Libertad.

b) Muestra vegetal.

La muestra obtenida fue 8 kg de hojas frescas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca) debido que el aceite esencial se encuentra localizado en su mayor porcentaje en las hojas. La extracción del aceite esencial se realizó por hidrodestilación empleando un equipo Clevenger de marca ISOLAB, seguidamente enfrentarlo a cepas de *Escherichia coli* para comprobar su efecto antibacteriano.

Criterios de inclusión:

- Hojas frescas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca), en buenas condiciones organolépticas y libres de microorganismos.
- Hojas no expuestas a la luz solar.

Criterios de exclusión:

- Hojas secas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca) que no cumplieron con las características organolépticas.

c) Población microbiológica:

Escherichia coli, se obtuvo de una cepa silvestre proporcionada por la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. Filial Trujillo.

d) Muestra microbiológica:

El aislamiento de la bacteria *Escherichia coli*, se realizó con la técnica de Kirby-Bauer y así obtener una cantidad suficiente de dicha bacteria para posteriormente cultivarla en las placas Petri.

Criterios de inclusión:

- Placas Petri debidamente esterilizadas, libres de algún contaminante que pueda interferir en los resultados.
- Placas con siembra apropiada de *Escherichia-coli* (3×10^8 UFC/mL).

Criterios de exclusión:

- Agar Mac Conkey con signos de contaminación o deterioro del mismo por ser expuesto a la humedad.
- Bacterias presentes en el ambiente de trabajo.

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDIDA
(Independiente) Aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca).	Pequeña porción concentrada de compuestos químicos, denominado aceite esencial, adquirido de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> ⁽³²⁾ .	Adquirido por el método de hidrodestilación, y se utilizó tres concentraciones diferentes.	Tratamientos 5% v/v 10% v/v 15% v/v Control DMSO 5% v/v	Cualitativo nominal.
(Dependiente) Efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Escherichia coli.</i>	Valoración del efecto antibacteriano, con el objetivo de inhibir el crecimiento de la bacteria <i>Escherichia coli.</i>	Se determinó a través de la medición de los halos de inhibición.	Medida del halo de inhibición expresado en (mm) Sensibilidad en (mm) Nula (< a 8) Limite (8-14) Medio (15-20) Sumamente sensible (>20)	Cuantitativo de razón

4.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos.

a) Obtención de la muestra:

- La muestra *Ocimum basilicum L.* (albahaca) fue recolectada de forma completa (raíz, tallo, hojas, y flores) para obtener la certificación respectiva.
- Se adquirió 8 kg de material vegetal del centro poblado de Pedregal, dicho lugar pertenece al Distrito: Simbal, Provincia: Trujillo, Departamento: La Libertad.
- Posteriormente se escogieron las hojas frescas y conservadas para lavarlo adecuadamente y eliminar microorganismos que pudieran estar adheridos a la muestra vegetal.

b) Extracción del aceite esencial:

- Para obtener el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* se realizó mediante la técnica de arrastre a vapor (hidrodestilación).
- El método consiste en colocar los 8 Kg de las hojas de *Ocimum basilicum L.* en el recipiente, seguidamente se agrega la cantidad de 3 litros de agua destilada. Durante de los primeros 60 minutos empezaron a desprender pequeñas microgotas en el embudo de decantación y aproximadamente en 6 horas se obtiene la cantidad total del aceite esencial.
- De los 8 Kg de hojas de *Ocimum basilicum L.* (albahaca) se logró extraer 1 ml aproximadamente de aceite esencial lo cual se almaceno correctamente en un depósito de vidrio color ámbar y tapado herméticamente para conservar sus propiedades.

c) Preparación de las diferentes concentraciones de aceite esencial.

- Se preparó 3 concentraciones diferentes de aceite esencial 5%, 10% y 15%, teniendo como solución madre el aceite esencial extraído puro (100%) usando como solvente Dimetilsulfoxido al 5%. Las concentraciones obtenidas se colocaron en tubos de ensayo protegidos con papel aluminio para evitar la exposición a la luz, lo cual puede alterar la composición química del aceite esencial.

Fórmula para obtener la concentración de los aceites esenciales.

CONCENTRACIÓN FINAL DE LOS ACEITES ESENCIALES

VOLUMEN DE ACEITE ESENCIAL	VOLUMEN DMSO AL 5%	VOLUMEN FINAL	CONCENTRACIÓN (%)
0.05 ml	0.95 ml	1 ml	5 %
0.1 ml	0.9 ml	1 ml	10 %
0.15 ml	0.85 ml	1 ml	15 %

DMSO: Dimetilsulfóxido

d) Rejuvenecimiento de la bacteria.

- La bacteria silvestre *Escherichia coli* se adquirió de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Filial Trujillo.
- Se rejuveneció la bacteria para obtener una muestra pura; aislando a *Escherichia coli*.
- Se esterilizó un asa bacteriológica de siembra por flameado de llama en un mechero y se introduce en un tubo de ensayo donde estaba con agua estéril totalmente desinfectado.
- Se sembró *Escherichia coli* en una placa Petri.
- Se colocó en la incubadora durante 24 horas y se observó el crecimiento de *Escherichia coli*.

e) Preparación del medio de cultivo.

Para la preparación de medio de cultivo debe realizarse con precaución, para que el microorganismo al ser sembrado se desarrolle y faciliten su aislamiento e identificación para ello debemos seguir los siguientes pasos:

- Cada ingrediente o medio deshidratado completo se disolvió en un volumen adecuado de agua destilada estipulada en los frascos.
- Se determinó el pH del medio y si es necesario se ajustará. El pH se determinó por medio de indicadores.
- El medio ya preparado se colocó en un recipiente adecuado (matraz) cuya boca se cerró con un tapón de algodón.
- El medio obtenido se esterilizó en autoclave.

- Para la esterilización de nuestro agar (Mac Conkey) se utilizó la técnica de esterilización por calor húmedo, esta técnica generalmente se utiliza la autoclave el cual fue llevado a 121 °C durante 15 minutos la temperatura se alcanza utilizando vapor de agua a una presión de 15 libras.
- Finalmente se agregó a las placas Petri en condiciones asépticas.

f) Preparación de material para la esterilización y aplicación.

- Se utilizó la técnica de esterilización con calor seco, ya que requiere mayor duración e intensidad por que la conducción de calor es menos rápida. La temperatura que se utiliza generalmente oscila entre 160 y 180 °C durante 1 hora y 45 minutos. Entre los materiales esterilizados por esta técnica tenemos las placas Petri, vasos de precipitación, varillas, pipetas, probetas, etc. el cual fue utilizado de acuerdo a procedimiento. En esta técnica la inactivación de los contaminantes ocurre por la pérdida de agua y oxidación de todos sus componentes esenciales⁽³³⁾.

g) Incorporación del aceite esencial al medio cultivado:

- Se utilizó el método de Kirby-Bauer, que consiste en agregar los discos Whatman N° 5 la cantidad de 4 discos en cada placa Petri para luego incorporar el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* en 5 placas de cada una de las diferentes concentraciones (5%, 10% y 15%) a las placas Petri⁽³⁴⁾.
- Se colocó en la incubadora las placas Petri durante 24 horas y se observó los halos de inhibición de cada concentración.

- Finalmente se procedió a medir los halos de inhibición para poder evaluar si cumple el efecto antibacteriano el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* frente a cepas de *Escherichia coli*.

4.5. Plan de análisis.

Para evaluar el efecto antibacteriano de *Ocimum basilicum L.* (albahaca) frente a cepas de *Escherichia coli*; se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existe o no diferencia significativa en el efecto antibacteriano de las tres concentraciones 5%, 10% y 15% del aceite esencial de *Ocimum basilicum L.*, midiendo los halos de inhibición en el cultivo de *Escherichia coli*. El análisis se realizó en el programa de Microsoft Excel.

4.6. Matriz de consistencia.

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo de investigación	Variables	Definición operacional	Indicadores y escala de medición	Plan de análisis
Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> del aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca) frente a cepas de <i>Escherichia coli.</i>	¿El aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca), tendrá actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ?	<p>General: Comprobar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (albahaca), frente a cepas de <i>Escherichia coli.</i></p> <p>Específicos: Evaluar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> en las concentraciones de (5%, 10% y 15%) frente a cepas de <i>Escherichia coli.</i></p> <p>Determinar a qué porcentaje de las diferentes concentraciones del aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i>, presenta mayor actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Escherichia coli.</i></p>	<p>Ha: El aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i> (Albahaca), presenta efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Escherichia coli.</i></p> <p>Ho: El aceite esencial de las hoja de <i>Ocimum basilicum L.</i> (Albahaca), no presenta efecto antibacteriano frente a <i>Escherichia coli.</i></p>	<p>Tipo de investigación Cuantitativo.</p> <p>Diseño de investigación Experimental.</p>	<p>Independiente Aceite esencial de las hojas de <i>Ocimum basilicum L.</i></p> <p>Dependiente Efecto antibacteriano frente a cepas de <i>Escherichia coli.</i></p>	<p>Adquirido por el método de hidrodestilación, y se utilizó tres concentraciones diferentes.</p> <p>Se determinó a través de la medición de los halos de inhibición.</p>	<p>Cualitativo nominal</p> <p>Tratamientos 5% v/v 10% v/v 15% v/v Control DMSO 5 % v/v</p> <p>Cuantitativo de razón</p> <p>Medida del halo de inhibición en (mm).</p> <p>Sensibilidad en (mm)</p> <p>Nula (< a 8) Limite (8-14) Medio (15-20) Sumamente sensible (>20)</p>	<p>Se determinó en tablas y gráficos utilizando el programa Microsoft Excel y la prueba estadística ANOVA.</p>

4.7. Principios éticos.

El presente trabajo de investigación se realizó respetando la normativa legal y los principios éticos, cumpliendo los procesos establecidos de acuerdo a las normas de bioseguridad.

Protección a las personas: La persona en toda investigación, necesitan cierto grado de protección, el cual se determina el riesgo en que incurran y la probabilidad de obtengan un beneficio. Respetando la dignidad humana, la identidad, la diversidad, la confidencialidad y la privacidad.

Beneficencia y no maleficencia. Se debe asegurar el bienestar de las personas que participan en las investigaciones.

Justicia. El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas.

Integridad científica. La integridad o rectitud deben regir no sólo la actividad científica de un investigador, sino que debe extenderse a sus actividades de enseñanza y a su ejercicio profesional. La integridad del investigador resulta especialmente relevante cuando, en función de las normas deontológicas de su profesión, se evalúan y declaran daños, riesgos y beneficios potenciales que puedan afectar a quienes participan en una investigación.

Consentimiento informado y expreso. En toda investigación se debe contar con la investigación de voluntad, informada, libre, inequívoca y específica; mediante la cual las personas investigadores consienten el uso de la información para lo fines específicos establecidos en el proyecto ⁽³⁵⁾.

V. RESULTADOS:

5.1. Resultados.

Tabla 01: Evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca), en las concentraciones de 5%, 10% y 15% frente a cepas de *Escherichia coli* a las 24 horas.

Halos de inhibición de <i>Escherichia coli</i> expresado en (mm)				
Concentraciones	Nº Placas	Halos	Promedio total ± desviación estándar	Significancia
Aceite esencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. al 5%	1	13.5	13.35 ± 0.60	* 0.0183
	2	13.75		
	3	13.75		
	4	12.75		
	5	13		
Aceite esencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. al 10%	1	13.25	13.9 ± 0.17	
	2	14.25		
	3	13.75		
	4	14		
	5	14.25		
Aceite esencial de <i>Ocimum basilicum</i> L. al 15%	1	14	15.55 ± 0.81	
	2	15.5		
	3	18.25		
	4	14		
	5	16		
Control negativo Dimetilsulfoxido al 5%	1	6	6 ± 0	
	2	6		
	3	6		
	4	6		
	5	6		

Prueba ANOVA p<0.05

5.2. Análisis de resultados.

En la actualidad se ha despertado nuevamente el interés por volver a emplear las plantas medicinales con el fin de curar o atenuar enfermedades, debido a su gran variedad y potencial de principios activos que contienen los aceites esenciales que naturalmente ejercen fines terapéuticos sobre las distintas enfermedades que aquejan a los individuos, por tal motivo es que hoy en día tanto en el Perú y el mundo se viene incorporando las plantas como materia prima para la producción de medicamentos.

Por otro lado *Escherichia coli* constituye a uno de los principales patógenos que perjudican a la población infantil, es por ello que el presente trabajo experimental se ejecutó para determinar si el aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* ejerce actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli*. En los resultados obtenidos en la presente investigación se determina que:

En la tabla 1, se observa las concentraciones de 5%; 10% y 15% del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* frente a cepas de *Escherichia coli*, Observándose promedios y desviación estándar para los halos de inhibición expresado en milímetros de $13.35 \text{ mm} \pm 0.60$ para 5%; $13.9 \text{ mm} \pm 0.17$ para 10%; $15.55 \text{ mm} \pm 0.81$ para 15%. Dichos resultado defieren lo encontrado por Hernández M, que en el año 2016 en Cajamarca investigaron el efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* en cepas de *Escherichia* donde el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* al 10% alcanzó un halo de inhibición promedio de 7,15 mm, al 50% un halo de inhibición promedio de 9,10 mm y al 100% un halo de inhibición promedio de 13,95 mm de diámetro. Por lo tanto, se concluye que el aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* tiene actividad antibacteriana in vitro frente a las cepas de *Escherichia coli*⁽¹⁵⁾.

En la presente tabla también se observa nivel de significancia de la prueba ANOVA es $p = 0.0183$ la cual es menor a ($p < 0.05$) en la que se demuestra que existe diferencia significativa entre el efecto antibacteriano de las tres concentraciones de 5%; 10% y 15% del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* frente a cepas de *Escherichia coli*, dichos resultados permiten rechazar la hipótesis nula y se aceptar la hipótesis alternativa, confirmando que el crecimiento bacteriano de *Escherichia coli* disminuye significativamente por efecto de las tres concentraciones. La acción antibacteriana se debe al compuesto aromático isoestragol, en la investigación realizada por Rivas K et al, en el 2015 investigaron la composición química del aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* donde fueron identificados 14 constituyentes, representando el 77,22% del aceite. El isoestragol (58,33%), humuleno (5,71%), eucaliptol (4,09%), β -linalol (2,71%), cis- β -ocimeno (2,00%) y alcanfor (1,63%) fueron los mayores compuestos volátiles. El aceite mostró actividad antibacteriana leve contra *Escherichia coli*, presentando halos de inhibición entre 8 a 12 mm de diámetro. Probablemente esto puede deberse a que pueden actuar inhibiendo la síntesis proteica de la bacteria ⁽¹²⁾.

Finalmente también se comprobó que existe diferencias con respecto a la medida de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones de 5%; 10% y 15% observándose promedios y desviación estándar para los halos de inhibición correspondiente de 13.35 ± 0.60 ; 13.9 ± 0.17 ; **15.55 ± 0.81** respectivamente. Quedando demostrado que a mayor concentración mayor halo de inhibición, como se visualiza que al 15% de aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* presenta mayor inhibición que en las concentraciones de 5% y 10 % frente a cepas de *Escherichia coli*.

VI. CONCLUSIONES

- El aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.*, si presenta efecto antibacteriano *in vitro* frente al cultivo de *Escherichia Coli*.
- El aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* en las concentraciones de 5%, 10% y 15% si presenta acción antibacteriana frente al cultivo de *Escherichia coli*.
- La concentración de 15% del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* fue la que presentó mayor actividad antibacteriana que las de 5% y 10% frente al cultivo de *Escherichia coli*.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- Se recomienda realizar más estudios de investigación sobre el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Ocimum basilicum L.*, sobre otros tipos de bacterias, debido a su alto porcentaje de compuestos fenólicos que contiene su aceite esencial.
- Se recomienda que para investigaciones futuras se trabaje con cepas puras de *Escherichia Coli*, ya que en esta oportunidad se trabajó con cepas silvestres proporcionadas por (ULADECH) Filial Trujillo.
- Se recomienda realizar estudios de las hojas de *Ocimum basilicum L.* de diferentes lugares del Perú, para evaluar y comprobar si hay diferencia en sus compuestos químicos del aceite esencial.
- Se recomienda a las futuras investigaciones identificar y evaluar los metabolitos secundarios del aceite esencial de *Ocimum basilicum L.* que ejercen el efecto antibacteriano frente a *Escherichia coli*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Fonnegra R. y Jiménez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. [En línea]. Colombia: Universidad de Antioquia; 2007. [Citado 03 de abril 2017] Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=K8eI7ZeFpsC&printsec=frontcover&dq=plantas+medicinales+aprobadas+en+colombia&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjMtqSNzonUAhWBZCYKHZIsCDUQ6AEIIDAA#v=onepage&q=plantas%20medicinales%20aprobadas%20en%20colombia&f=false>.
- 2.- Cruz L. Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba. Guisa, Granma. Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2015 Dic [Citado el 07 julio 2018]; 20 (4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000400007.
- 3.- Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Facultad de medicina, Universidad mayor de San Marcos. [Revista Online] Perú 2016. [Citado el 30 marzo 2017]; 77(4): 327-332. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/379/37949317002.pdf>.
- 4.- Soto M, Leyva M. Estudio exomorfológico y fitoquímico de los bulbos de dos especies endémicas del Perú de la familia Amaryllidaceae. Facultad de Medicina Humana. 2015 [Citado el 23 de diciembre 2017]; Disponible en: http://www.academia.edu/13505388/Estudio_exomorfol%C3%B3gico_y_fitoqu%C3%ADmico_de_los_bulbos_de_dos_especies_end%C3%A9micas_del_Per%C3%BA_de_la_familia_Amaryllidaceae.
- 5.- Vivot, E; Sánchez, C; Cacik, F; Sequin, C. Ciencias exactas y naturales: Investigación. Rev. Cienc. docencia tecnol. [En línea]. 2012. [Citado el 03 de abril 2017]; 24

(45). Disponible en: http://www.revistacdyt.uner.edu.ar/spanish/cdt_45/documentos/45-Vivot.pdf

6.- Ochoa C; Eiros B; Pérez M; Inglada G. Etiología de las infecciones del tracto urinario y sensibilidad de los uropatógenos a los antimicrobianos. Rev Esp Quimioterap. [En línea]. 2005. [Citado el 17 de marzo 2017]; 18 (2): 124-135. Disponible en: <http://seq.es/seq/0214-3429/18/2/124.pdf>.

7.- Cardoso G; Sosa M. Propiedades del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y sus aplicaciones en alimentos. Rev. Temas sel, de ing, de alim. [En línea]. 2012. [Citado el 12 de diciembre 2017]; 6 (1); 54 – 65 Disponible en: [http://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6\(1\)-Cardoso-Ugarte-et-al-2012.pdf](http://www.udlap.mx/wp/tsia/files/No6-Vol-1/TSIA-6(1)-Cardoso-Ugarte-et-al-2012.pdf).

8.- Vanaclocha B, Salvador C. Fitoterapia: vademécum de prescripción. [En línea]. Barcelona; Masson: 2006. [Citado 02 de mayo 2017]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=K3V4p5Pj_dAC&printsec=frontcover&dq=ocimum+basilicum+.L+descripcion+botanica&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjK8LSBtNXeAhXIrFkKHURCWAQ6AEIMTAB#v=onepage&q&f=false.

9.- Sánchez A; Patógenos emergentes en la línea de sacrificio de porcino. [En línea]. Madrid - España: Díaz de Santos; 2009 [Citado 11 enero 2017]. URL. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=UIzNBXDEg0C&pg=PA81&dq=escherichia+coli&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjZ_OeskYzNAhVDVyYKHTISAOEQ6AEIYZAJ#v=onepage&q=escherichia%20coli&f=false.

10.- Naves F, Lázaro P. Formación de biopelículas por “*escherichia coli*” y su correlación con factores de virulencia: prevención y actividad de antimicrobianos frente a organismos planctónicos y asociados a biopelículas [Internet]. Madrid:

Universidad Complutense de Madrid; 2010. [Citado el 08 de octubre 2018]. Available from: ProQuest Ebook Central.

11.- Gutiérrez M, Sánchez C. Detección y caracterización de *Escherichia coli* patógeno en carne de pollo por reacción en cadena de la polimerasa. [Tesis] [En línea]. Perú; Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017. [Citado 08 de junio 2017]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6390/Gutierrez_um.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

12.- Rivas K, Rivas C, Gamboa L. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de albahaca (*Ocimum basilicum* L.). Multiciencias. Universidad del Zulia [Revista Online]. 2015. [Citado el 16 junio 2017]; 15 (3), 281-289 Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/904/90444727006.pdf>.

13.- Beltrán M, Cantillo M, Vivas A. et al. Actividad antibacteriana de los aceites obtenidos de *Ocimum basilicum* L. var. *cinammom*, *O. album*, *O. thrysiflorum*, para uso potencial en fitocosmética. Pereira- Colombia. Investigaciones Andina, vol. 15, núm. 27, 2013, pp. 798-810. [Citado el 18 de octubre de 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/2390/239028092006.pdf>.

14.- Rojas M, Sánchez Y, Abreu Y, Espinosa I, Correa T, Pino O, et al. Caracterización química y actividad antibacteriana de aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. y *Ocimum basilicum* var. *genovese* L. Rev. Protección Veg. [Internet]. 2012 [Citado el 07 de diciembre 2017]; Volumen 27(2): 130-134. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000200010.

15. Hernández M. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum* L. “albahaca” en cepas de *Escherichia coli* aisladas de pacientes con infecciones del tracto urinario atendidos en consultorio externo de Urología del

Hospital Regional de Cajamarca. [Tesis Online] 2017. [Citado el 29 octubre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/459/FYB-003-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

16.- Muñoz F. Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. [En línea]. Barcelona: Mundi-Prensa Libros, 1996. [Citado el 04 de diciembre 2017] Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=WmX5TibuSrIC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

17.- Gonzalez A. Obtención de Aceites Esenciales y Extractos Etanolicos de Plantas del Amazonas, Universidad Nacional De Colombia Sede Manizales Departamento de Ingeniería Química Abril de 2004. Pág 22-24.

18.- Olaya J y Méndez J. Guía de plantas y productos medicinales. [En línea]. Colombia; Convenio Andrés Bello, 2003. [Citado el 19 abril 2017] Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=0Zs6HmaBy_gC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

19.- Peredo L, Palau E, Lopez A, Métodos de extracción de aceites esenciales, Departamento de Ingeniería Química y alimentos, Universidad de las Americas Puebla, San Andres Cholula, Pue, Mexico, 2009. Internet (Citado el 25 de febrero 2017). Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf).

20.- Ryman D. Aromaterapia: enciclopedia de las plantas aromáticas y de sus aceites esenciales. Barcelona; Kairos. 2013. [Citado 17 de Abril 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=IBldh49NSScC&printsec=frontcover&dq=todo+sobre+aceites+esenciales&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwin15Cy2dLeAhWqwFkKHeVkAtkQ6AEILTAB#v=onepage&q=todo%20sobre%20aceites%20esenciales&f=false>.

- 21.- Pino A. Aceites esenciales: química, bioquímica, producción y usos [Internet]. Havana: Editorial Universitaria; 2015. [Citado el 15 de julio 2018]. Available from: ProQuest Ebook Central.
- 22.- Pazmiño G. “Aplicación de las operaciones unitarias de lixiviación y destilación en la obtención del sustrato, con la finalidad de cuantificar el poder antioxidante de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) *Ocimum basilicum* L. (albahaca). [Tesis] [En línea]. Ecuador; Universidad de Guayaquil 2016. [Citado 02 de mayo 2017]. Disponible en: <https://docplayer.es/77133787-Universidad-de-guayaquil-facultad-de-ingenieria-quimica.html>.
- 23.- Martínez M. Elaboración de un pan Gourmet a base de harina de garbanzo y trigo; incorporando albahaca con cualidades nutritivas mejoradas. Universidad autónoma Antonio Narro. [Tesis Online]. México 2015. [Citado el 02 de mayo 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7677/T20662%20BARRETO%20MARTINEZ%2C%20MIRIAM%20%2063737.pdf?sequence=1>.
- 24.- Zepeda K. Respuesta del cultivo de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) con diferentes láminas de riego. [Tesis] [En línea]. Mexico; Universidad Autónoma de Baja California. 2016. [Citado 21 de Mayo 2017]. Disponible en: <http://biblio.uabcs.mx/tesis/te3439.pdf>.
- 25.- Angles E. Uso racional de antimicrobianos y resistencia bacteriana: ¿hacia dónde vamos? Facultad de Medicina Alberto Hurtado, Universidad Peruana Cayetano Heredia. [Revista Médica Herediana] Lima 2018. [Citado el 11 de junio 2018]; 29(1): 3-4. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2018000100001.

- 26.- López M Cárdenas M y Osuna A. Manual de laboratorio de microbiología para el diagnóstico de infecciones gastrointestinales. [En línea]. OmniaScience, 2012. [Citado el 29 de diciembre 2017]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=9Ia0IsKZG80C&pg=PP6&dq=infecciones+gastrointestinales&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj53LTsg43VAhXDHD4KHVhCAGUQ6AEIIDA#v=onepage&q=infecciones%20gastrointestinales&f=false>.
- 27.- Rodríguez A. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli. Salud pública Méxi [revista en la Internet]. 2002 Septiembre. [Citado el 03 de julio 2018]; 44 (5): 464-475. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011.
- 28.- Álvarez M. Caracterización de tipos patógenos de Escherichia coli y otros peligros biológicos asociados a la leche de cabra y productos derivados. [Tesis] [En línea]. España; Universidad de León. 2014. [Citado 12 de octubre 2018]. Disponible en: https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/3607/tesis_8d55c0.PDF?sequence=1
- 29.- Benvenuto V. “Determinación de Escherichia coli enteropatógena (ECEP) en agua de mar del Circuito de Playas de la Costa Verde” [Tesis] [En línea]. Peru; Universidad Ricardo Palma. 2017. [Citado 02 de mayo 2017]. Disponible en: http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/1016/Benvenuto_vp.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- 30.- Mosquito S. Mecanismos Moleculares De Resistencia Antibiótica En Escherichia Coli Asociadas a Diarrea. Rev Peru Med Exp Salud Pública. [Revista en la Internet]. 2011 Julio. [Citado 16 de agosto 2018]; 28(4):648-56 Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n4/a13v28n4.pdf>.

- 31.- Fernández U. Grupo de Trabajo de la Guía. Guía de Terapéutica Antimicrobiana del Área Aljarafe, 3ª edición, Sevilla. Distrito Sanitario Aljarafe-Sevilla Norte y Hospital San Juan de Dios del Aljarafe, 2018. . [Citado 23 de noviembre 2018] Disponible en: <http://www.juntadeandalucia.es/servicioandaluzdesalud/guiaterapeuticaaljarafe/guiaTerapeuticaAljarafe/>.
- 32.- Alcides J. Tratado de fitofármacos y nutracéuticos [Internet]. Buenos Aires: Corpus Editorial; 2007. [Citado el 15 de abril 2018]. Disponible en: ProQuest Ebook Central.
- 33.- Picazo J. Métodos Básicos Para El Estudio De La Sensibilidad De Los Antimicrobianos Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Página 18-20 (54) [Citado el 15 noviembre 2017] internet disponible en: http://coesantseimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf.
- 34.- Instrucciones de uso medio en placa listo para usar. Becton, Dickinson and Company. [Revista Online]. Alemania Febrero 2017. [Citado el 29 julio 2018]. Disponible en: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8774>.
- 35.- Comité institucional de ética para la investigación, versión 001, aprobado por el consejo universitario con resolución N° 0108-2016-CU-ULADECH Católica. Chimbote, Perú 2016. [Citado el 31 de diciembre del 2018]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>.

ANEXOS:

Anexo 01. Procedimientos de la extracción del aceite esencial de las hojas de *Ocimum basilicum L.* (Albahaca), y cultivo de *Escherichia coli*.



Figura N° 1: Recolección de la planta *Ocimum basilicum L.* completa.



Figura N° 2: Separación de las hojas frescas de *Ocimum basilicum L.*



Figura N° 3: Extracción del aceite esencial de albahaca.



Figura N° 4: Medición del aceite esencial extraído.

DESGLOSABLE
 Apellidos y Nombres: ROJAS REYES OSWALDO NATIVIDAD DNI 42518459
 Objeto de la Solicitud: (Indicar en forma clara lo que solicita y detallar documentos que adjunta)
CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE UNA PLANTA.
 Familia: LAMIACEAE
 N. C.: Ocimum basilicum L.

N° Procedimiento del TUPA: 142

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
 FACULTAD U OFICINA Herbario HUT
 FECHA 21/10/2016 HORA: 17:29am.
 RECEPCIONISTA: Eric F. Rodríguez P.
 AUTOMÁTICO S.A. (+) S.A. (-)
 PLAZO ATENCIÓN (Según TUPA): 02 días háb.
 REGISTRO _____ FIRMA [Firma]

DISTRIBUCIÓN GRATUITA

Figura N° 5: Certificación de la planta *Ocimum basilicum L.* (albahaca).

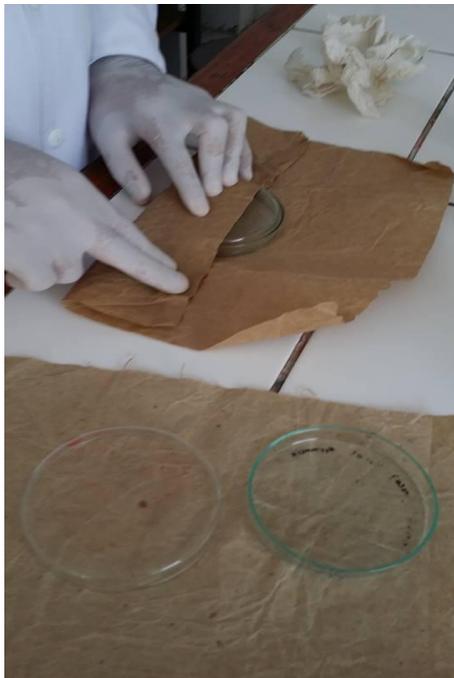


Figura N° 6: Preparación del material a esterilizar.



Figura N° 7: Material esterilizado: placas Petri, matraz, varillas, etc.

Laboratorio Santa Fe
 A. Raymondi 330 - Trujillo - Telefax: 222015
 Cel: 949676652 / 949435991 / 973371723
 RPM: *371485 - *619152

CONSTANCIA DE ATENCIÓN Nº 001951

FECHA: 05/03/11 HORA: EDAD:

PACIENTE: ROSAS REYES OSWALDO

DIRECCIÓN: TELÉFONO:

ANÁLISIS SOLICITADOS

15 gr. de Agar → 50.00
 50 discos estériles (0.20 x €/d) → 10.00

TOTAL SI: 60.00 ACTA: 60.00 SALDO: 0.00

REGISTRADOR: COMPROBANTE DE PAGO: Factura: () Boleta: ()

CONDICIONES PREANALÍTICAS (Declaración verbal del cliente)
 El paciente cumple con lo requerido: SI () / NO ()

Observaciones:

MUESTRA: Toma () / Recepción () Fecha/hora:

ENTREGA DE RESULTADOS: Fecha/hora: / Via Lugar:

COMPROMISO ENTRE AMBAS PARTES:

El paciente cumple con lo requerido: SI () / NO ()

Firma de conformidad del cliente (paciente o apoderado):
 Nombre del Muestrador (Laboratorio):
 Número: 42518459
 Dni: 42518459

CANJEAR POR SU COMPROBANTE DE PAGO

Figura N° 8: Boleta de la compra del agar Mac Conkey.

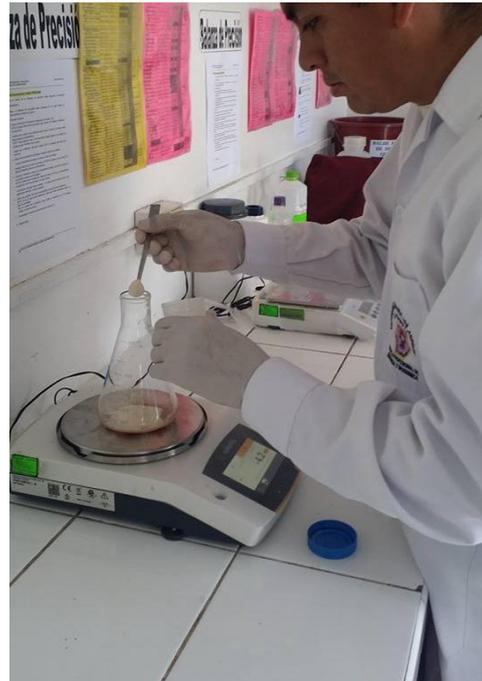


Figura N° 9: Pesado y preparación del agar Mac Conkey.



Figura N° 10: Exposición del agar Mac Conkey en el autoclave.



Figura N° 11: Esterilización del área, laboratorio de Microbiología.



Figura N° 12: Agregado del agar Mac Conkey en las placas Petri.



Figura N° 13: Incorporación de 4 discos en cada una de las placas.



Figura N° 14: Agregado del aceite esencial en cada placa Petri.



Figura N° 15: Lectura del aceite esencial a las 24 horas.



Figura N° 16: Medición y obtención de resultados del efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de *Ocimum bacilicum L.* (albahaca) frente a cepas de *Escherichia coli*.

Tabla 02. Prueba de Actividad antibacteriana del solvente Dimetilsulfoxido al 5% frente a *Escherichia coli*, medida de halos de inhibición expresado en (mm).

Control negativo						
	D1 (mm)	D2 (mm)	D3 (mm)	D4 (mm)	Promedio	Desviación estándar
P 1	6	6	6	6	6	0
P 2	6	6	6	6	6	0
P 3	6	6	6	6	6	0
P 4	6	6	6	6	6	0
P 5	6	6	6	6	6	0

Tabla 03. Prueba estadística ANOVA.

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F	Significancia	Valor crítico para F
Entre grupos	13.11	2	6.55	5.688	0.0183	3.88
Dentro de los grupos	13.82	12	1.15			
Total	26.93	14				

Gráfico 01. Comparación gráfica de las tres concentraciones

