

**DESARROLLO DE UN PRODUCTO BIOACTIVO PARTIENDO DE EXTRACTOS
VEGETALES DE ESPECIES ALTO ANDINAS**

JESSICA TATIANA DUEÑAS FLOREZ

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2017**

**DESARROLLO DE UN PRODUCTO BIOACTIVO PARTIENDO DE EXTRACTOS
VEGETALES DE ESPECIES ALTO ANDINAS**

JESSICA TATIANA DUEÑAS FLÓREZ

**Proyecto integral de grado para optar por el título de:
INGENIERA QUÍMICA**

**Director:
Diana Carolina Corzo Barragán
Ingeniera Agroindustrial**

**Codirector:
Felipe Correa Mahecha
Ingeniero Químico**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.
2017**

Nota de aceptación:

Ingeniero Fernando Moreno
Presidente del jurado

Ingeniera Diana Morales
Jurado 1

Ingeniera Liliana Mesa
Jurado 2

Bogotá D.C, Mayo, 2017

DIRECTIVAS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

DR. JAIME POSADA DÍAZ

Vicerrector de Desarrollo y Recursos Humanos

DR. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Posgrados

DRA. ANA JOSEFA HERRERA VARGAS

Secretario General

DR. JUAN CARLOS POSADA GARCÍA-PEÑA

Decano Facultad de Ingeniería

ING. JULIO CESAR FUENTES ARISMENDI

Director Programa ingeniería

ING. LEONARDO DE JESÚS HERRERA GUTIÉRREZ

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores

*Dedico este trabajo que representa la culminación de una etapa importante en mi vida a Dios y a los seres queridos que han estado conmigo en todo momento, mi familia, padres, hermano y novio.
De todo corazón gracias por estar ahí, los amo mucho.*

AGRADECIMIENTOS

La autora expresa su agradecimiento a:

Agradezco en primer lugar a Dios por permitirme llegar a este momento de vida, por los ayudadores que puso en mi proceso de aprendizaje académico, profesional y personal y por ayudarme a cumplir las metas y logros propuestos, agradezco a mi familia por brindarme el apoyo económico y moral para cumplir con mis funciones, establecer mis sueños, en especial a mi mamá Carolina Flórez y mi papá Raúl Dueñas por formarme como persona y enseñarme el valor de aportar a la sociedad incluso afrontando la dificultad que el proceso de crianza implica y los grandes esfuerzos que hicieron por sacarme adelante, a mi hermano Dayron Dueñas por su apoyo en los momentos difíciles y sus consejos, a mi novio David Gómez por estar siempre a mi lado aun cuando la situación era tan difícil que me derrumbaba completamente y no podía levantarme por mi misma.

Mis sinceros agradecimientos al Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis por permitirme realizar mi experimentación en sus instalaciones, por los recursos académicos y materiales, a los profesionales que me ayudaron a profundizar áreas del conocimiento y aportaron un gran valor en mi trabajo como Leonardo Moreno quien me dirigió y enseñó en la etapa de la concepción y realización de la idea de investigación, a Diana Corzo por su ayuda y dirección en la etapa de culminación del proyecto gracias a su experiencia y conocimiento.

Por último, agradezco a la Fundación Universidad de América por brindarme la oportunidad de cursar mis estudios superiores en esta institución y contar con excelentes profesionales que han hecho mi proceso de aprendizaje muy valioso, en especial al docente Felipe Correa quien me brindó su apoyo en el trabajo de investigación con su experiencia y conocimiento profesional y académico y su incomparable compromiso, también al orientador Fernando Moreno, quien me guio y encaminó para lograr un buen proyecto de investigación desde el principio con gran dedicación y conocimiento.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	23
OBJETIVOS	25
1. GENERALIDADES	26
1.1 ESPECIES VEGETALES	26
1.1.1 Extractos naturales de plantas	26
1.1.2 Aceites esenciales	27
1.1.2.1 Obtención de los aceites esenciales	27
1.1.3 Especies vegetales seleccionadas	28
1.1.3.1 Valeriana (<i>Valeriana triphylla</i> Kunth)	28
1.1.3.2 Poleo arbustivo (<i>Lippia turbinata</i> Griseb.)	32
1.1.3.3 Canelo de páramo (<i>Drimys granadensis</i> L.f.)	35
1.2 MICROORGANISMOS	39
1.3 LA BIOPROSPECCION EN EL JARDÍN BOTÁNICO DE BOGOTÁ Y EN COLOMBIA	41
1.3.1 En el Jardín Botánico de Bogotá	41
1.3.2 Bioprospección en Colombia, Biocomercio	41
2. SELECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL QUE NO PRESENTA TOXICIDAD Y POSEA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA	43
2.1 BIOENSAYO CON ARTEMIA SALINA	43
2.1.1 Parámetros para el cultivo de <i>Artemia salina</i>	44
2.1.2 Parte experimental	46
2.1.2.1 Material de laboratorio	46
2.1.2.2 Equipos	46
2.1.2.3 Reactivos	46
2.1.2.4 Cepas bacterianas	47
2.1.2.5 Material Botánico	47
2.1.2.6 Organismos	47
2.1.3 Adecuación de la metodología para medir la toxicidad de las especies vegetales mediante <i>Artemia salina</i>	47
2.1.4 Obtención de extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies	52

2.1.5	Definición de variables	56
2.1.6	Metodología para el bioensayo	56
2.1.7	Selección de las especies según bioensayo de toxicidad	58
2.2	CONCETRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LAS ESPECIES VEGETALES CON CARACTERÍSTICAS ANTIBIÓTICAS	59
2.2.1	Preparación de las concentraciones a evaluar de las especies vegetales	59
2.2.1.1	Activación de las bacterias	60
2.2.2	Poder inhibitorio mediante prueba de pozos	60
3.	FORMULACIÓN DE UN PRODUCTO BIOACTIVO CON BASE EN UNA ESPECIE VEGETAL ALTOANDINA	68
3.1	SELECCIÓN DEL PRODUCTO A DESARROLLAR	68
3.1.1	Características	69
3.1.2	Materias primas	70
3.2	PARTE EXPERIMENTAL	71
3.2.1	Material de laboratorio	71
3.2.2	Equipos	72
3.2.3	Reactivos	72
3.2.4	Cepas bacterianas	72
3.3	ESTANDARIZACIÓN DEL PRODUCTO	73
3.3.1	Fórmula base	80
3.4	CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO	81
3.4.1	Prueba de efectividad	82
3.4.1.1	Pruebas <i>In vivo</i>	85
3.4.1.2	Pruebas <i>In vitro</i>	89
3.4.2	Pruebas organolépticas y fisicoquímicas	93
3.4.3	Etiqueta del producto final	93
4.	MATERIAS PRIMAS Y COSTOS ASOCIADOS A MATERIAS PRIMAS DEL PROCESO	96
4.1	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO A NIVEL LABORATORIO	96
4.1.1	Condiciones de operación	96
4.1.2	Variables del proceso de producción	96
4.1.3	Diagrama de bloques	97

4.1.4	Balance de materia	99
4.2	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO A ESCALA PLANTA PILOTO	104
4.2.1	Condiciones de operación a escala piloto	105
4.2.2	Variables del proceso de producción	105
4.2.3	Diagrama de bloques	106
4.2.4	Balance de materia	107
4.3	REQUERIMIENTO DE MATERIAS PRIMAS Y QUÍMICOS DEL PROCESO A ESCALA PLANTA PILOTO	108
4.3.1	Costos del producto a escala planta piloto	108
4.3.1.1	Potencial económico parcial	109
5.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	111
6.	CONCLUSIONES	112
7.	RECOMENDACIONES	113
	BIBLIOGRAFÍA	114
	ANEXOS	117

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Diagrama obtención extractos vegetales etanólicos	53
Figura 2. Obtención aceite esencial a partir de especies vegetales Alto andinas	55
Figura 3. Diseño experimental bioensayo con <i>Artemia salina</i> con cada extracto de las especies vegetales a evaluar	57
Figura 4. Metodología bioensayo con <i>Artemia salina</i>	58
Figura 5. Diagrama prueba de efectividad <i>in vivo</i>	83
Figura 6. Diagrama de la prueba de efectividad <i>in vitro</i>	84
Figura 7. Etiqueta ubicada en la parte frontal del envase del producto	94
Figura 8. Etiqueta ubicada en la parte frontal del envase del producto	95
Figura 9. Diagrama. Producción de gel antibacterial con aceite esencial de Poleo (<i>Lippia turbinata</i> Griseb) nivel laboratorio	98
Figura 10. Diagrama. Producción de gel antibacterial con aceite esencial de Poleo (<i>Lippia turbinata</i>) escala piloto	106

LISTA DE FOTOS

	pág.
Foto 1. <i>Valeriana triphylla</i> Kunth, herbario Jardín Botánico de Bogotá	28
Foto 2. <i>Lippia Turbinata</i> Griseb, herbario y Jardín Botánico de Bogotá	32
Foto 3. Canelo de páramo (<i>Drimys granadensis</i> L.f.) en Jardín Botánico de Bogotá	36
Foto 4. Artemia salina y huevos sin eclosionar	45
Foto 5. Adecuación de la metodología para el bioensayo con <i>Artemia salina</i>	52
Foto 6. Extractos Etanólicos obtenidos de las especies seleccionadas	54
Foto 7. Montaje para la obtención de aceite esencial de Poleo (<i>Lippia turbinata</i> Griseb)	55
Foto 8. Método modificado de pozos de agar por placa y cepa bacteriana	61
Foto 9. Pre formulación N°1	75
Foto 10. Pre formulación N°2	76
Foto 11. Pre formulación N°3	77
Foto 12. Pre formulación N°4	78
Foto 13. Pre formulación N°5	79
Foto 14. Pre formulaciones	80
Foto 15. Tratamientos a evaluar	82
Foto 16. Halos de inhibición en <i>K. pneumoniae</i>	92
Foto 17. Halos de inhibición tratamiento 4,5 y antibiótico	92

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Taxonomía Valeriana (<i>Valeriana triphylla</i> Kunth)	28
Tabla 2. Pruebas de identificación de grupos de compuestos en extractos etanólicos y acuosos provenientes de hojas-tallos y flores de <i>Valeriana triphylla</i> Kunth (0: No hay reacción. 1. Reacción dudosa. 2: Reacción positiva normal. 3: Reacción positiva alta)	29
Tabla 3 . Taxonomía Poleo (<i>Lippia turbinata</i> Griseb.)	31
Tabla 4. Pruebas de identificación de grupos de compuestos en extractos etanólicos, acuosos y n-hexano provenientes de hojas y tallos de <i>Lippia turbinata</i> Griseb	33
Tabla 5. Taxonomía Canelo de páramo (<i>Drimys granadensis</i> L.f.)	35
Tabla 6. Marcha fitoquímica Canelo de Páramo (<i>Drimys granadensis</i>) realizada en el Jardín Botánico de Bogotá por Leonardo Moreno	36
Tabla 7. Cepas bacterianas para prueba de actividad antibacteriana	39
Tabla 8. Parámetros establecidos en el manual de la FAO para el cultivo de <i>Artemia Salina</i>	44
Tabla 9. Taxonomía de la <i>Artemia salina</i> según el manual para el cultivo de <i>Artemia salina</i> de la FAO	45
Tabla 10. Medición de pH bioensayo Artemia salina 1	48
Tabla 11. Medición de pH bioensayo <i>Artemia salina</i> 2	49
Tabla 12. Medio de cultivo con nutrientes adicionales	50
Tabla 13. Metodología adecuada y bioensayo con diferentes muestras de <i>Artemia Salina</i> , control de pH	51
Tabla 14. Especificaciones establecidas para el cultivo de <i>Artemia salina</i> y la eclosión de los huevos según la adecuación realizada anteriormente	52
Tabla 15. Parámetros establecidos para el cultivo de <i>Artemia salina</i> y la eclosión de los huevos según la adecuación realizada anteriormente	52
Tabla 16. Concentraciones de extracto para el bioensayo	56
Tabla 17. Porcentaje de mortalidad de <i>Artemia salina</i> con respecto a las concentraciones de extractos vegetales de las especies <i>Drimys granadensis</i> , <i>Valeriana triphylla</i> Kunth y <i>Lippia turbinata</i> Griseb	58
Tabla 18. Dosis letal media de los extractos de las especies vegetales evaluadas	59
Tabla 19. Concentraciones en [mg/ml] de extracto de cada solución para la prueba de pozos	60
Tabla 20. Concentraciones [mg/ml], cantidad de extracto [μ L] y AMH en [μ L] por pozo	61
Tabla 21. Concentración mínima inhibitoria obtenida en la prueba de pozos, para el extracto Etanólico y el aceite esencial de las hojas de Poleo (<i>Lippia turbinata</i>)	63
Tabla 22. Ventajas y desventajas de las especies vegetales Alto Andinas evaluadas	66

Tabla 23. Pre formulaciones del gel antibacterial para determinar la fórmula base	73
Tabla 24. Panel para el análisis de la pre-formulación	74
Tabla 25. Composición másica de la pre formulación N°1	74
Tabla 26. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°1	75
Tabla 27. Composición másica de la pre formulación N°2	76
Tabla 28. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°2	76
Tabla 29. Composición másica de la pre formulación N°3	77
Tabla 30. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°3	77
Tabla 31. Composición másica de la pre formulación N°4	78
Tabla 32. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°4	78
Tabla 33. Composición másica de la pre formulación N°5	79
Tabla 34. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°5	79
Tabla 35. Formulación de los tratamientos a evaluar	80
Tabla 36. Resultados promedio prueba de difusión por discos para efectividad <i>in vitro</i> del producto	90
Tabla 37. Categorías de interpretación de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos	91
Tabla 38. Resultados pruebas de color, olor, textura y pH por 6 semanas	93
Tabla 39. Corrientes del proceso a nivel laboratorio para 1 L de gel antibacterial en masa (g)	99
Tabla 40. Corrientes de entrada y salidas globales del proceso	101
Tabla 41. Tabla balance de materia en composición másica para el proceso de producción del gel antibacterial	103
Tabla 42. Tabla de balance de materia en masa de cada componente por corriente para la producción a nivel laboratorio	104
Tabla 43. Corrientes del proceso a escala piloto para 32 L de gel antibacterial, en masa (g)	107
Tabla 44. Tabla de balance de materia para el proceso de producción a escala piloto	108
Tabla 45. Cantidades de materias primas requeridas para la producción de 32 L de gel antibacterial	109
Tabla 46. Costo de las materias primas para cumplir con el requerimiento de materia primar para la producción de 32 L	109

LISTA DE GRÁFICAS

	pág.
Gráfica 1. Cambio de pH inicial día 1 a día 2 dependiendo de los gramos de <i>Artemia salina</i> por L de solución salina	48
Gráfica 2. Cambio de pH inicial día 1 a día 2 dependiendo de los gramos de <i>Artemia salina</i> por L de solución salina	49
Gráfica 3. Cambio en el pH de la solución salina dependiendo de la cantidad de <i>Artemia salina</i>	50
Gráfica 4. Concentración mínima inhibitoria de la especie <i>Lippia turbinata</i> frente a las 7 cepas bacterianas	62
Gráfica 5. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Poleo	64
Gráfica 6. Concentración mínima inhibitoria de la especie <i>Valeriana triphylla Kunth</i> frente a las 7 cepas bacterianas	64
Gráfica 7. Concentración mínima inhibitoria de la especie Canelo de páramo (<i>Drimys granadensis</i>) frente a las 7 cepas bacterianas	65
Gráfica 8. Número de colonias antes y después del tratamiento 1 con 0.025% de aceite esencial	87
Gráfica 9. Número de colonias antes y después del tratamiento 2 con 1% de aceite esencial para una concentración de 32 µg/mL	87
Gráfica 10. Número de colonias antes y después del tratamiento 3 con 0% de aceite esencial	88
Gráfica 11. Número de colonias antes y después del tratamiento 4	89

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Diagramas para la extracción de las especies vegetales	118
Anexo B. Análisis Probit toxicidad	121
Anexo C. Lista de pre formulaciones	123
Anexo D. Lista de formulaciones y/o tratamientos	126
Anexo E. Tabla de medición de pH y propiedades organolépticas por 6 semanas.	128
Anexo F. Ilustraciones de los instrumentos de medición	129
Anexo G. Certificados de calibración	133
Anexo H. Fichas de seguridad	135

LISTA DE ABREVIATURAS

AMH: Agar Mueller Hinton

As: *Artemia Salina*

ATCC: American Type Culture Collection

ATM: Atmosfera(s)

CMI: Concentración mínima inhibitoria

DMSO: Dimetilsulfoxido

DL50: Dosis letal media

g: Gramo(s)

°C: Grados Celsius

JBB: Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis

Kg: Kilogramo(s)

L: Litro(s)

µg: Microgramo(s)

mg: Miligramo(s)

mL: Mililitro(s)

mm: Milímetro(s)

Nº: Número

pH: Potencial de Hidrógeno

TEA: Trietanolamina

UFC: Unidad formadora de colonia

GLOSARIO

ACEITE ESENCIAL: fracciones líquidas volátiles, destilables por arrastre de vapor, contiene el aroma de las plantas. Se utiliza generalmente en la industria cosmética, farmacéutica y de alimentos.

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA: capacidad de matar, destruir, inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena.

ALTO ANDINAS: entre 2800 y 3200 msnm se desarrolla el bosque Alto Andino, el cual cuenta con amplia diversidad biológica.

ANÁLISIS FITOQUÍMICO: pruebas químicas cualitativas que producen alteraciones estructurales y que se manifiestan en cambios de color o formaciones de precipitados y se emplean para determinar los grupos funcionales.

ARTEMIA SALINA: especie de crustáceo braquiópodo, que habita en agua salada y es una fuente nutricional para otros peces.

AUTÓCTONAS: especie que ha nacido o se ha originado en el lugar en donde se encuentra.

BACILLUS SUBTILIS: bacteria Gram positiva, genera esporas, causante de la contaminación de los alimentos y en ciertas ocasiones intoxicaciones.

BIO-ACTIVIDAD: actividad proveniente de un ser vivo.

BIOCOMERCIO: tendencia del mercado, desarrollando nuevos productos de la aprovechando la biodiversidad de manera sostenible, generando empleo e ingresos en países en desarrollo ricos en biodiversidad.

BIOPROSPECCIÓN: uso y aprovechamiento de una especie vegetal a partir de los potenciales de uso en la alimentación, la medicina o la industria.

BIOPRODUCTO: productos con componentes naturales que promueven un cambio hacia el modelo en armonía con el medio ambiente y sus propiedades son otorgadas por una especie natural.

CEPA BACTERIANA: población de células de una sola especie descendientes de una única célula, usualmente propagada clonalmente.

ENDÉMICAS: está muy localizado en algún lugar, convirtiéndose en característico del mismo.

ESCHERICHIA COLI: entero bacteria Gram negativa causante de enfermedades diarreicas.

EXTRACTOS VEGETALES: son productos que sometemos a procesos de transformación biológica y permite extraer de las plantas determinadas sustancias útiles.

FITOQUÍMICA: rama de la bioquímica que se ocupa de los procesos químicos de las plantas.

HALO DE INHIBICIÓN: en el método de Kirby- Bauer para la susceptibilidad de las bacterias frente a un antimicrobiano se denota un círculo alrededor del disco con antibiótico donde no hay crecimiento de bacteria.

INFECCIÓN NOSOCOMIAL: infecciones contraídas en la estancia en el hospital.

KLEBSIELLA PNEUMONIAE: entero bacteria Gram negativa, se encapsula, causante de enfermedades como neumonía e infecciones del tracto urinario.

MACERACIÓN: proceso de extracción solido-liquido, consiste en sumergir el producto en un líquido y dejarlo ahí una cantidad de tiempo para transmitir al líquido las características del producto macerado.

MEDIO DE CULTIVO: es una solución que permite el crecimiento de uno o más organismos.

METABOLITO SECUNDARIO: son los compuestos químicos sintetizados por las plantas y cumplen las funciones no esenciales en ellas, intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y el ambiente.

NAUPLIOS: primera larva característica de los crustáceos, posee sólo tres pares de cefálicos con los que nada.

NEUTRALIZACIÓN: acción de neutralizar, reacción entre un ácido y una base con el fin de encontrar un pH diferente.

NUTRIENTES: que nutre, que procede del exterior de la célula para realizar funciones vitales.

POTENCIAL ECONÓMICO: etapa del diseño preliminar de un proceso que debe hacerse tan rápido como sea posible, para tomar la decisión de continuar con el proyecto si existe un potencial favorable o terminarlo y no invertir tiempo adicional si el proyecto no tiene perspectivas económicas razonables.

PSEUDOMONA AERUGINOSA: bacteria Gram negativa, causante de infecciones en los pulmones, tejidos, vías respiratorias y urinarias.

SALMONELLA: formada por bacilos Gram negativos con flagelos y sin la capacidad de desarrollar capsula, causante de enfermedades transmitidas por alimentos.

STAPHYLOCOCCUS AUREUS: bacteria Gram positiva, no esporulada, causante de enfermedades en la piel y en los pulmones.

STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIS: bacteria Gram positiva, causante de infecciones en pacientes con prótesis o diálisis debido a su penetración en el plástico causando infecciones intrahospitalarias.

TRANSFORMACIÓN: proceso en el que algo se modifica, altera o cambia de forma manteniendo su identidad.

RESUMEN

Se desarrolló un gel sanitizante antibacterial evaluando la actividad antibacteriana y la toxicidad de extractos vegetales de diferentes tejidos de tres especies vegetales Alto andinas que son el canelo de páramo (*Drimys granadensis* L.f), el Poleo arbustivo (*Lippia turbinata* Griseb) y la Valeriana (*Valeriana triphylla* Kunth), con el objetivo de formular un producto cuyas propiedades antibacterianas fueran otorgadas por la especie vegetal y no por un producto de síntesis química.

Se evaluó la inhibición de siete cepas bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella*, *Pseudomona aeruginosa* y *Bacillus subtilis*, para evaluar la concentración mínima inhibitoria de las especies vegetales no tóxicas, se escogió el Poleo (*Lippia turbinata* Griseb) para realizar el producto final por su baja toxicidad medida mediante el bioensayo con *Artemia salina*, el poder inhibitorio encontrado en la prueba de pozos y características organolépticas favorables para un producto cosmético como lo son el olor y el color.

Posteriormente se procedió a pre formular el producto estableciendo como constante los ingredientes de la formula base y variando la concentración de aceite esencial de la especie *Lippia turbinata*.

Se realizaron pruebas *in vivo* e *in vitro* del producto final con el objetivo de comprobar la efectividad frente a un control negativo y un control positivo o blanco comercial.

En el documento se encontrará la metodología para desarrollar un producto antibacteriano a partir de una especie vegetal Alto Andina promisorio por su actividad antibacteriana y propiedades organolépticas reconocibles, por otra parte, se podrá estudiar la propuesta para llevar la producción a nivel industrial teniendo en cuenta las ventajas y desventajas que con lleva el proceso.

Palabras claves: EXTRACTOS VEGETALES, ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, TOXICIDAD, GEL SANITIZANTE.

ABSTRACT

An antibacterial sanitizing gel was developed evaluating the antibacterial activity and toxicity of different tissues of three species Alto andinas, Canelo de páramo (*Drimys granadensis* S.f), Poleo (*Lippia turbinata* Griseb) and Valeriana (*Valeriana triphylla* Kunth), with the goal of formulate a product whose antibacterials properties were granten by the plants and not for a chemical synthesis product.

The inhibition of seven bacterias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella*, *Pseudomona aeruginosa* and *Bacillus subtilis* was evaluated in order to evaluate the minimum inhibitory concentration of the nontoxic species, the Poleo (*Lippia turbinata* Griseb) was chosen because it had the lowest toxicity measured by the *Artemia salina* bioassay, also it had inhibitory activity and favorable organoleptic characteristics for a cosmetic product such as odor and color.

The product was pre-formulated stablishing the ingredients of the base and changing the concentration of essential oil of the specie *Lippia turbinata*.

The final product had assays *in vivo* e *in vitro* with the objective of test the effectiveness against a negative control and a positive control or commercial treatment.

In this work you will find the methodology to develop an antibacterial product with a promising plant evaluating its antibacterial activity and organoleptic properties, also, it will be possible study the propose to take the production to industrial level knowing the advantages and disadvantages of the process.

Key words: VEGETABLE EXTRACTS, ANTIBACTERIAL ACTIVITY, TOXICITY, SANITIZING GEL.

INTRODUCCIÓN

El grupo de Investigación en Especies y Propagación de la Subdirección Científica del Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis, dedicado al desarrollo científico en pro del uso sostenible, conservación y propagación de las especies nativas de la Región Capital, lleva a cabo investigaciones en Bioprospección de especies vegetales de los ecosistemas alto Andinos y de páramo. Para esto dos de los parámetros más relevantes que determinan la Fito funcionalidad de un extracto son su toxicidad y su capacidad antibacteriana, estos dos indicadores permiten por ejemplo, conocer si un extracto vegetal es seguro o no y si presenta la dualidad de tener un alto poder inhibitorio sobre el crecimiento bacteriano y de esta forma proponer algún uso o producto derivado, donde se compruebe que la funcionalidad o carácter que se pretende aprovechar es otorgada por el extracto vegetal.

En las industrias de jabones, geles antibacteriales, colonias y demás productos de esa denominación, se utilizan diferentes materias primas, que en su mayoría proceden de procesos de síntesis química, para así poder otorgarle las funcionalidades y características organolépticas deseadas, es por esta razón que el diseño de un producto que use materias primas vegetales y biofuncionales es novedoso y vanguardista, pues no solo va a contribuir al cuidado del medio ambiente, sino que será una oportunidad para el mercado que está en crecimiento y que ha surgido desde 1996 con la promoción del biocomercio en Colombia, aprovechando las especies vegetales nativas encontrando un uso en la industria para el desarrollo económico, social e industrial de Colombia de forma sostenible, innovando desde bases científicas reproducibles y generando sinergias entre varias disciplinas. Teniendo así la posibilidad de desarrollar nuevos productos, con estas materias primas sustitutas y poder llegar a ser exportadores de productos hechos a base de extractos vegetales que no se consiguen fácilmente en otros países generando oportunidades de negocios e industrialización en el país.

Al iniciar el desarrollo del proyecto se plantearon las especies vegetales a partir de las cuales se obtuvieron los extractos vegetales a los que se les realizaron bioensayos con *Artemia salina* para determinar la toxicidad mediante la dosis letal media con la que se corroboró si eran seguros o no para un producto de contacto, posteriormente se hicieron las pruebas de actividad antibacteriana y se seleccionó la especie vegetal promisoría según su fito funcionalidad, de esta manera se procedió a realizar el producto a partir de pre formulaciones evaluadas teniendo en cuenta propiedades organolépticas definidas previamente y se escogió la fórmula base con la que se realizó el producto final.

Culminada la fabricación del producto antibacteriano se realizó la caracterización del mismo mediante pruebas de efectividad *in vivo* e *in vitro* y pruebas de estabilidad de propiedades organolépticas durante un tiempo establecido, se propuso el diagrama de bloques del proceso, junto con los costos asociados a las materias

primas para una producción a escala piloto y el potencial económico parcial del proceso, teniendo en cuenta únicamente las materias primas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un producto bioactivo partiendo de indicadores fitofuncionales, a base de extractos vegetales de una especie Alto andina.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Seleccionar el o los extractos vegetales de diferentes tejidos de especies Alto andinas.
2. Formular un producto comercial basado en la especie vegetal seleccionada.
3. Determinar los requerimientos de materias primas, el costo y el rendimiento del producto.

1. GENERALIDADES

La incursión de los extractos vegetales en la industria de productos de higiene, salud y cosméticos en los últimos años ha crecido, esto se debe a las múltiples cualidades que poseen estas nuevas materias primas sin mencionar la disminución en el impacto ambiental y la nueva gama de productos que pueden entrar a competir en el mercado y desarrollar industrialmente un país biodiverso como Colombia, a este nuevo mercado se le dio el nombre de biocomercio.

Colombia fue el primer país a nivel mundial en implementar un programa nacional de biocomercio en 1999, desde ese momento Colombia ha apoyado al crecimiento y la generación de programas nacionales de biocomercio en los países de la comunidad Andina con el objetivo de aprovechar la biodiversidad nativa para el desarrollo de nuevos productos de alto valor agregado.¹

1.1 ESPECIES VEGETALES

Con el objetivo de mostrar un panorama de las especies vegetales y el uso y presencia recurrente en la industrialización de varios productos, se procede a explicar las especies vegetales y de qué manera se utilizan, generalmente los productos se fabrican a partir de los extractos vegetales obtenidos mediante diversos métodos, dentro de los cuales se encuentran los extractos oleosos, extractos etanólicos, entre otros.²

1.1.1 Extractos naturales de plantas. Los extractos naturales han sido utilizados a través de la historia por sus características antimicrobianas y antioxidantes. Actualmente están tomando fuerza nuevamente debido a que tienen un atractivo comercial de tal manera que en octubre de 2006 se creó un sistema de mercados para productos de la biodiversidad: OBIO donde se encuentra la información de mercados para las especies nativas de Colombia y el Fondo Biocomercio Colombia para el apoyo de empresas de mercados verdes y biocomercio³, sin mencionar varias ventajas notables que tienen frente a otro tipo de materias primas, a continuación, se nombrarán algunas de las ventajas que se han tenido en cuenta.

¹ MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE DE COLOMBIA. Principios y criterios del Biocomercio. [En línea]. 2017. Disponible en internet: <http://www.minambiente.gov.co/index.php/component/content/article?id=513:plantilla-negocios-verdes-y-sostenibles-9>

² ARBELAEZ, Jorge. Desarrollo técnico a nivel de laboratorio de una línea de tintura capilar a base de extractos naturales. Trabajo de grado de Ingeniería Química. Bogotá. Universidad de América. Facultad de Ingenierías. Programa de Ingeniería Química. 2004. 42 p.

³ MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE. 2017. [En línea]. Disponible en internet: <http://www.minambiente.gov.co/index.php/component/content/article?id=513:plantilla-negocios-verdes-y-sostenibles-9>

- Al ser natural para los consumidores es equivalente a menor riesgo.⁴
- Tiene mayor aceptación por la comunidad debido a que generan menos daños en la salud que los productos que contienen una cantidad mayor de químicos y aditivos, por lo que el retorno a los productos naturales rige a los consumidores del mundo.⁵

1.1.2 Aceites esenciales. Son una mezcla de compuestos volátiles que forman parte de la esencia de la planta, y tienen una naturaleza química muy diversa, generalmente se destacan por el olor intenso que evoca a la planta característica, ya sea el olor de hierba recién cortada, dulce, empalagosa y demás, los aceites esenciales poseen diferentes notas fragantes, el aceite se produce en un (0.5 a 6%) en plantas aromáticas.⁶

Cuando el material vegetal es sometido al vapor de agua, libera una mezcla odorífera líquida que es lo que se denomina aceite esencial, esta está compuesta por una variedad de sustancias volátiles que asemejan el olor a la planta de la cual se extraen.⁷

1.1.2.1 Obtención de los aceites esenciales. Los aceites esenciales se pueden obtener por tres métodos fundamentalmente.

- a. Arrastre con vapor: Este proceso se lleva a cabo con vapor seco sobrecalentado que penetra el material vegetal a una presión más alta que la atmosférica, por esta razón la corriente de vapor rompe las células oleíferas y arrastra la mezcla volátil, que luego es condensada con un refrigerante y pueden ser separados mediante un decantador.⁸
- b. Destilación Agua-vapor: En este sistema se emplea un vapor húmedo proveniente de agua en ebullición que traspasa el material vegetal suspendido sobre una malla.⁹

⁴ ARBELÁEZ, Jorge. Desarrollo técnico a nivel de laboratorio de una línea de tintura capilar a base de extractos naturales. Trabajo de grado de Ingeniería Química. Bogotá. Universidad de América. Facultad de Ingenierías. Programa de Ingeniería Química. 2004. 42 p.

⁵ OCHOA, Ismael. Colombia, un futuro prometedor en biocomercio. En: Asonatura. [En línea] 2012 Disponible en internet: <http://www.asonatura.com/files/COLOMBIA%20Y%20EL%20BIOCOMERCIO.pdf>.

⁶ STASHENKO, Elena. Aceites esenciales. Bucaramanga, Santander. Universidad industrial de Santander. CENIVAM. (2009). p, 14-15.

⁷ Ibid, p, 15.

⁸ Ibid p, 16.

⁹ Ibid. p, 16.

- c. Hidrodestilación: Este es un proceso en el cual el material se sumerge directamente en agua y se calienta hasta lograr que hierva, se usa usualmente para material delicado como las flores.¹⁰

1.1.3 Especies vegetales seleccionadas. A continuación, se encontrarán las tres especies vegetales escogidas y priorizadas por el grupo de manejo de especies y propagación de Jardín Botánico de Bogotá por ser nativas y encontrarse en el área de influencia además de contar con pocos estudios fito funcionales, se encontrará su correspondiente taxonomía, descripción y marcha fitoquímica.

1.1.3.1 Valeriana (*Valeriana triphylla* Kunth)

Tabla 1. Taxonomía Valeriana (*Valeriana triphylla* Kunth)

Reino	Plantae
División	Angiosperms
Orden	Dipsacales
Familia	Caprifoliaceae
Género	Valeriana
Epíteto específico	Triphylla
Autor del epíteto específico	Kunth
Nombre científico	<i>Valeriana triphylla</i> Kunth

Fuente: Herbario del Jardín Botánico de Bogotá¹¹

Foto 1. *Valeriana triphylla* Kunth, herbario Jardín Botánico de Bogotá.



Fuente: Herbario del Jardín Botánico de Bogotá. Disponible en internet: <http://colecciones.jbb.gov.co/herbario/especimen/17370>

¹⁰ STASHENKO, Elena. Aceites esenciales. Bucaramanga, Santander. Universidad industrial de Santander. CENIVAM. (2009). p, 16.

¹¹ JARDÍN BOTÁNICO DE BOGOTÁ. Herbario. Bogotá. [En línea]. 2017. Disponible en internet: <http://colecciones.jbb.gov.co/herbario/especimen/17370>

Descripción: Esta planta es una hierba de 1 m de altura, con flores de color blanco y olor desagradable.¹²

Ubicación geográfica: Principalmente se encuentra en áreas de páramo de países latinoamericanos como Venezuela y Colombia.

En la tabla 2, se podrá observar las pruebas de identificación de grupos de compuestos en extractos etanólicos y acuosos proveniente de las hojas y tallos de *Valeriana triphylla Kunth*, realizada en el Jardín Botánico de Bogotá por Leonardo Moreno¹³

Tabla 2. Pruebas de identificación de grupos de compuestos en extractos etanólicos y acuosos provenientes de hojas-tallos y flores de *Valeriana triphylla Kunth* (0: No hay reacción. 1: Reacción dudosa. 2: Reacción positiva normal. 3: Reacción positiva alta).

Grupo de Compuestos	Reacción identificación	Sistema extractor		Sistema extractor	
		Hoja-tallo		Flor	
		Agua	Etanol	Agua	Etanol
Caracterización inicial del extracto	Color	Verde	Verde marrón	Verde	Verde
	Olor	Desagradable	Enmascarado por solvente	Desagradable	Enmascarado por solvente
	pH	6,8	6,5	6,8	5,1
	° Brix	4,0	3,0	5,0	5,0
	Peso de 1mL seco (mg)	19,5	11,5	19,8	21,0
	KMnO ₄	Decolora	Decolora	Decolora	Decolora

¹² MARÍN, César. & PARRA, Sandra. *Bitácora de flora: Guía visual de plantas de páramos en Colombia*, Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Panamericana formas e impresos S.A, 2015. 194 p.

¹³ MORENO, Leonardo. Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis, Subdirección científica. Informe inédito. 2016

Tabla 2. (Continuación)

Grupo de Compuestos	Reacción identificación	Sistema extractor		Sistema extractor	
		Hoja-tallo		Flor	
		Agua	Etanol	Agua	Etanol
	HCl	Rojo	Rojo	Rojo	Verde oscuro
	H ₂ SO ₄	Rojo	Rojo	Rojo	Rojo
	NaOH	Verde oscuro	Marrón	Marrón	Verde oscuro
	Ninhidrina	Morado	Fucsia	Violeta	Fucsia
	Shinoda	1	0	2	1
	Rosenhein	2	1	2	1
Flavonoides	Ácido Sulfúrico	1	2	2	2
	Cloruro Férrico	2	2	2	2
	Reducción Zn/HCl	2	2	0	1
Quinonas	Acetato de Magnesio	1	2	0	1
	Bornträger	1	2	1	2
	<i>o</i> -fenildámina	0	0	2	2
Taninos	Cloruro férrico	2	2	2	2
	Gelatina-NaCl	2	2	2	2

Tabla 2. (Continuación)

Grupo de Compuestos	Reacción identificación	Sistema extractor		Sistema extractor	
		Hoja-tallo		Flor	
		Agua	Etanol	Agua	Etanol
Saponinas	Espuma	2	1	2	0
	Lieberman-Bouchard	2	2	2	2
Cardiotónicos	Bajet	2	1	2	2
Cumarinas	Hidroxamato	2	1	2	2
Esteroides	Salkowski	2	2	2	1
	Lieberman-Bouchard	2	2	2	2
Alcaloides	Mayer	2	2	2	1
	Valser	2	2	2	2
	Wagner	2	2	2	2
	Drangendorf	2	2	2	2

1.1.3.2 Poleo arbustivo (*Lippia turbinata* Griseb.)

Tabla 3 . Taxonomía Poleo (*Lippia turbinata* Griseb.)

Reino	Plantae
División	Angiosperms
Orden	Lamiales
Familia	Verbenaceae
Género	Lippia
Nombre científico	<i>Lippia</i>

Fuente: Herbario Jardín Botánico de Bogotá¹⁴

¹⁴ JARDÍN BOTÁNICO DE BOGOTÁ. Herbario. Bogotá. [En línea]. 2017. Disponible en internet: <http://colecciones.jbb.gov.co/herbario/especimen/12868>.

Foto 2. *Lippia Turbinata* Griseb, herbario y Jardín Botánico de Bogotá¹⁵



Descripción: Conocida comúnmente como Poleo, es una planta aromática, Arbusto.

En la tabla 4 se encuentran las pruebas de identificación de grupos de compuestos en extractos etanólicos, acuosos y n-hexano provenientes de hojas y tallos de *Lippia turbinata* Griseb cultivada y realizada en el Jardín Botánico de Bogotá por Leonardo Moreno¹⁶

Tabla 4. Pruebas de identificación de grupos de compuestos en extractos etanólicos, acuosos y n-hexano provenientes de hojas y tallos de *Lippia turbinata* Griseb.

Grupo de Compuestos	Reacción de identificación	Hojas			Tallos		
		Sistema extractor			Sistema extractor		
		Agua	Etanol	Hexano	Agua	Etanol	Hexano
	Color	Verde	Verde	Verde	Marrón	Café	Café

¹⁵ JARDÍN BOTÁNICO DE BOGOTÁ. Herbario. Bogotá. [En línea]. 2017. Disponible en internet: <http://colecciones.jbb.gov.co/herbario/especimen/12868>.

¹⁶ MORENO, Leonardo. Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis, Subdirección científica. Informe inédito. 2016.

Tabla 4. (Continuación)

Grupo de Compuestos	Reacción de identificación	Hojas			Tallos		
		Sistema extractor			Sistema extractor		
		Agua	Etanol	Hexano	Agua	Etanol	Hexano
Caracterización inicial del extracto	Olor	Picante	Picante	Picante	Picante	Picante	Picante
Azúcares	Somogyi-Nelson	2	2	0	2	2	0
	Fehling	2	1	0	2	1	0
	Dubois	2	1	0	2	2	0
Aminoácidos	Ninhidrina	2	2	0	2	2	0
Fenoles	Folin-Ciocalteus	2	2	0	2	2	0
	Cloruro férrico	2	2	0	2	1	0
Flavonoides	Shinoda	2	2	0	2	2	0
	Rosenheim	2	2	0	2	2	0
	Ácido sulfúrico	2	2	0	2	2	0
Quinonas	Reducción Zn/HCl	2	2	1	2	2	0
	Acetato de magnesio	2	2	0	2	2	0
	Bornträger	2	1	0	2	2	0

Tabla 4. (Continuación)

Grupo de Compuestos	Reacción de identificación	Hojas			Tallos		
		Sistema extractor			Sistema extractor		
		Agua	Etanol	Hexano	Agua	Etanol	Hexano
	<i>o</i> -fenildiamina	2	1	0	2	2	0
Taninos	Gelatina	2	1	0	2	2	0
	Cloruro férrico	2	2	0	2	1	0
Saponinas	Espuma	1	1	0	2	1	0
	Liberman-Bouchard	1	1	1	2	2	0
Cardiotónicos	Baljet	1	1	0	1	1	0
	Kedde	1	1	0	1	1	0
Cumarinas	Hidróxido de potasio alcohólico	2	1	0	2	2	0
	Hidroxamato férrico	1	2	0	2	2	0
Esteroides	Liberman-Bouchard	2	2	0	2	2	0
	Salkowski	2	2	0	2	2	0
Alcaloides	Mayer	2	1	0	2	1	0
	Dragendorff	1	2	0	2	2	0
	Wagner	2	1	0	1	2	0

Tabla 4. (Continuación)

Grupo de Compuestos	Reacción de identificación	Hojas			Tallos		
		Sistema extractor			Sistema extractor		
		Agua	Etanol	Hexano	Agua	Etanol	Hexano
	Reineckato	2	2	0	1	2	0

Fuente: MORENO, Leonardo. Jardín Botánico de Bogotá, Subdirección científica. Informe inédito. 2016.

1.1.3.3 Canelo de páramo (*Drimys granadensis* L.f.)

Tabla 5. Taxonomía Canelo de páramo (*Drimys granadensis* L.f.)

Reino	Plantae
División	Angiosperms
Orden	Canellales
Familia	Winteraceae
Género	<i>Drimys</i>
Epíteto específico	<i>Granadensis</i>
Autor del epíteto específico	L. f.
Nombre científico	<i>Drimys granadensis</i> L. f.

Fuente. Herbario Jardín Botánico de Bogotá¹⁷

¹⁷ JARDÍN BOTÁNICO DE BOGOTÁ. Herbario. Bogotá. [En línea]. 2017. Disponible en internet: (<http://coleccion.es.jbb.gov.co/herbario/especimen/6301>)

Foto 3. Canelo de páramo (*Drimys granadensis* L.f.) en Jardín Botánico de Bogotá



Descripción: Árbol de hasta 18 m de alto. Hojas simples, alternas oblongo elípticas, de sabor muy picante; el haz es marcadamente verde oscuro lustroso y el envés casi blanco. Posee flores blancas con gran cantidad de pétalos.¹⁸

Distribución geográfica: Esta especie se encuentra desde México hasta Perú, en Colombia se encuentra principalmente en Boyacá, Cundinamarca, Antioquia, Cauca, Nariño y Santander.¹⁹ Es característica de los bosques Alto Andinos.²⁰

Tabla 6. Marcha fitoquímica Canelo de Páramo (*Drimys granadensis*) realizada en el Jardín Botánico de Bogotá por Leonardo Moreno.²¹

Grupo de Compuestos	Reacción de identificación	Hoja – Silvestre			Hoja – <i>Ex situ</i>		
		Sistema extractor			Sistema extractor		
		Agua	Etanol	Hexano	Agua	Etanol	Hexano
	Color	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde

¹⁸ CICCIO, José. Aceites esenciales de las hojas y de los frutos verdes de *Drimys granadensis* (Winteraceae). Centro de Investigaciones en Productos Naturales (CIPRONA). Escuela de Química, Universidad de Costa Rica, San José. 1996.

¹⁹ Catálogo de la Biodiversidad de Colombia. [En línea]. 2017. Disponible en Internet: (<http://www.biodiversidad.co/fichas/4831>).

²⁰ MARÍN, César. & PARRA, Sandra. *Bitácora de flora: Guía visual de plantas de páramos en Colombia*, Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Panamericana formas e impresos S.A, 2015. 27 p.

²¹ MORENO, Leonardo. Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis, Subdirección científica. Informe inédito. 2016.

Tabla 6. (Continuación)

Grupo de Compuestos	Reacción de identificación	Hoja – Silvestre			Hoja – <i>Ex situ</i>		
		Sistema extractor			Sistema extractor		
		Agua	Etanol	Hexano	Agua	Etanol	Hexano
Caracterización inicial del extracto	Olor	Picante	Picante	Picante	Picante	Picante	Picante
Azúcares	Somogyi-Nelson	2	2	1	2	3	1
	Fehling	2	2	1	2	3	1
	Dubois	2	2	1	2	3	1
Aminoácidos	Ninhidrina	2	2	0	2	2	0
Fenoles	Folin-Ciocalteus	2	2	0	2	2	1
	Cloruro férrico	2	2	0	2	2	1
Flavonoides	Shinoda	2	1	0	2	2	0
	Rosenheim	2	2	0	2	2	0
	Ácido sulfúrico	2	2	0	2	2	0
Quinonas	Reducción Zn/HCl	2	1	1	2	2	0
	Acetato de magnesio	2	1	0	2	2	0
	Bornträger	2	2	0	2	2	0

Tabla 6. (Continuación)

Grupo de Compuestos	Reacción de identificación	Hoja – Silvestre			Hoja – <i>Ex situ</i>		
		Sistema extractor			Sistema extractor		
		Agua	Etanol	Hexano	Agua	Etanol	Hexano
	<i>o</i> -fenildámina	2	2	0	2	2	0
Taninos	Gelatina	2	1	0	2	1	0
	Cloruro férrico	2	2	0	2	1	0
Saponinas	Espuma	2	0	0	2	1	0
	Liberman-Bouchard	1	0	1	2	2	0
Cardiotónicos	Baljet	1	1	0	2	2	0
	Kedde	2	1	0	2	2	0
Cumarinas	Hidróxido de potasio alcohólico	1	1	0	2	2	0
	Hidroxamato férrico	2	1	0	2	2	0
Esteroides	Liberman-Bouchard	2	2	1	2	2	0
	Salkowski	2	2	2	2	2	1
Alcaloides	Mayer	0	1	0	2	2	0
	Dragendorff	0	1	0	1	2	0
	Wagner	0	1	0	1	2	0

Tabla 6. (Continuación)

Grupo de Compuestos	Reacción de identificación	Hoja – Silvestre			Hoja – <i>Ex situ</i>		
		Sistema extractor					
		Agua	Etanol	Hexano	Agua	Etanol	Hexano
	Reineckato	0	2	0	2	2	0

Fuente: MORENO, Leonardo. Jardín Botánico de Bogotá, subdirección científica. informe inédito. 2016.

1.2 MICROORGANISMOS

Para realizar la prueba de poder inhibitorio y efectividad antibacteriana se escogieron siete cepas bacterianas para evaluar los antibacterianos tanto en Gramnegativas como en Grampositivas, en 3 o más cepas con esta denominación, entre las cuales se encuentran algunas con capacidad de generar esporas, con flagelos y sin flagelos, con el fin de no sesgar la investigación, las cepas escogidas pueden encontrarse en la tabla 7.

Tabla 7. Cepas bacterianas para prueba de actividad antibacteriana.

Bacteria	ATCC	Clasificación
<i>Klebsiella pneumoniae</i> *	300053	Gramnegativa
<i>Escherichia coli</i> *	25922	Gramnegativa
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	9027	Gramnegativa
<i>Salmonella typhimurium</i> *	14028	Gramnegativa
<i>Staphylococcus aureus</i> *	25923	Grampositiva
<i>Bacillus subtilis</i> *	6633	Grampositiva
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1228	Grampositiva

El ATCC (American Type Culture Collection) es el número que representa el reconocimiento y la certificación de las cepas bacterianas, asegurando datos y referencias acerca de las mismas, estas bacterias se escogieron por ser causantes de enfermedades patógenas como intoxicaciones, diarreas, neumonía, contaminación en alimentos, también suelen estar presentes en la superficie de la piel y provocar afecciones en la piel. La *K. pneumoniae* es un patógeno importante,

que se ha encontrado como el causante de infecciones en la comunidad y nosocomiales, causando la muerte generalmente en pacientes inmunocomprometidos²¹, los miembros del género *Klebsiella* son bacilos no flagelados, sin embargo cuentan con una gran cápsula, *K. pneumoniae* está asociada a causar infecciones en las vías respiratorias que se manifiestan con neumonías de alta gravedad²², por lo cual es una de las cepas bacterianas a evaluar.

Escherichia coli es la bacteria que se encuentra generalmente en las materias fecales del hombre y de otras especies animales, las infecciones causadas por cepas patogénicas pueden ser infecciones en vías urinarias, sepsis, meningitis y enfermedades diarreicas, *E. coli* es un bacilo Gramnegativo con flagelos, es la bacteria que más infecciones produce en heridas en los hospitales.²³

S. aureus y *S. epidermis*, donde *S. aureus* es la especie más patógena, se conoce también como estafilococo dorado, se encuentra comúnmente en la mucosa nasal, en la piel, pero sobretodo en las manos, por lo que es importante para la evaluación del antibacteriano, también se puede encontrar en la flora bacteriana normal de una persona, puede afectar a la piel generando forúnculos, infecciones en heridas, o afectar el organismo en general causando trombos, artritis, meningitis y otras enfermedades graves.²⁴ En cuanto a *S. epidermis* es un estafilococo oportunista ya que es patógeno únicamente cuando el paciente está en estado de debilidad, al igual que *S. aureus* se encuentra en mucosas y la piel.²⁵

Bacillus subtilis al igual que *S. epidermis* y *P. aeruginosa* es patógena únicamente en pacientes con debilidad, siendo encontrado en los alimentos y principalmente en los vegetales mal lavados, por esta razón se encuentran entre la categoría de patógenos oportunistas y se encuentran en el grupo 1 de riesgo al no presentarse como patógenos en personas sanas, en el grupo 2 de riesgo se encuentran la *Salmonella* y *S. aureus*, los cuales se transmiten fundamentalmente por contacto o ingestión.²⁶

Algunas de las bacterias como *S. aureus* son multiresistentes por esta razón es conveniente realizar una evaluación antibacteriana para determinar si es posible

²¹ GONZALES, Ana, et al. Caracterización de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productora de β -lactamasa de espectro extendido aisladas en dos unidades de cuidados intensivos . [En línea]. Disponible en Internet: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000400004.

²² ROMERO, Cabello. Microbiología y parasitología humana. México. Editorial Médica Panamericana. Edición 3. p, 805. 2007.

²³ Ibid, p, 753.

²⁴ GRANADOS, R. Microbiología Tomo 1. Bacteriología, virología, características y técnicas químicas. España. 2003. p, 82

²⁵ Ibid, p.82.

²⁶ PRATS, Guillem. Microbiología clínica. Madrid. Editorial médica Panamericana, 2005. 363 p.

atacar estas bacterias con un antibacteriano natural o si presenta la misma efectividad que un producto comercial.

1.3 LA BIOPROSPECCION EN EL JARDÍN BOTÁNICO DE BOGOTÁ Y EN COLOMBIA

1.3.1 En el Jardín Botánico de Bogotá. En el jardín botánico de Bogotá José Celestino Mutis existen cuatro estrategias fundamentales, la generación de conocimiento, la aplicación de conocimiento, la apropiación del conocimiento y la modernización en el jardín. En la generación de conocimiento se encuentra el área la subdirección científica cuyo objetivo general es generar conocimiento para la conservación, el manejo y la gestión apropiada de la diversidad florística en la región capital.

“El proyecto apunta a contribuir a la disminución de algunas de las causas que originan el problema del cambio climático, así como a mitigar los efectos que trae la pérdida de la biodiversidad para la supervivencia de las comunidades que integran la región capital de la nación. Razón por la cual se generaron seis programas de investigación entre los cuales está el programa de manejo de especies vegetales en donde se ubica la línea de investigación de Bioprospección. Esta línea contempla el desarrollo de investigaciones relacionadas con el uso y aprovechamiento de una especie vegetal a partir de los potenciales de uso en la alimentación, la medicina o la industria, entre otros.”²⁷

1.3.2 Bioprospección en Colombia, Biocomercio. El término biocomercio “se refiere al conjunto de actividades de recolección, producción, procesamiento y comercialización de bienes y servicios derivados de la biodiversidad nativa, bajo criterios de sostenibilidad ambiental, social y económica.”²⁸

Al tener este incentivo en el mercado tal y como se especifica en la página nacional del biocomercio en Colombia, la bioprospección y el biocomercio en Colombia han crecido y se han promovido desde 1996, encontrando una manera sostenible de motivar a las personas que poseen recursos nativos y pueden brindar bienes o servicios que ayuden al desarrollo del país.

²⁷JARDÍN BOTÁNICO DE BOGOTÁ. Programas de investigación. [En línea]. 2017. Disponible en Internet: <http://www.jbb.gov.co/index.php/programas-de-investigacion>.

²⁸ MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE. Principios y criterios del Biocomercio. [En línea]. 2017. Disponible en internet: <http://www.biocomerciocolombia.com/index.php/biocomercio-y-mercados-verdes/que-es-biocomercio>

El biocomercio pretende el aprovechamiento de la biodiversidad nativa para el desarrollo de nuevos productos de alto valor agregado como ²⁹:

- Extractos y productos de uso farmacéutico a partir de plantas nativas
- Extractos y productos de uso cosmético a partir de plantas nativas (cosmecéuticos)
- Bioinsumos para la agricultura orgánica (control de plagas)
- Colorantes naturales con plantas nativas
- Aceites esenciales para perfumería
- Aprovechamiento de la biodiversidad para la generación de alto impacto social
- Ecoturismo

Por esta y otras razones es importante profundizar en el tema de los productos con materias primas naturales que provengan de la biodiversidad Colombiana, como se ha mencionado anteriormente es una oportunidad en crecimiento y posee varias ventajas con respecto a los productos realizados con materias primas obtenidas mediante síntesis química, no obstante es necesario realizar investigaciones que conlleven al desarrollo de productos bioactivos partiendo de los estudios etnobotánicos.

²⁹MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE. Principios y criterios del Biocomercio. [En línea]. Disponible en internet: <http://www.minambiente.gov.co/index.php/component/content/article?id=513:plantilla-negocios-verdes-y-sostenibles-9>

2. SELECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL QUE NO PRESENTA TOXICIDAD Y POSEA EFECTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Se realizó un ensayo de toxicidad *in vivo* en base al modelo de letalidad de *Artemia salina* de acuerdo a artículos científicos que realizan estos bioensayos, para determinar si una especie vegetal es segura o no, según indicadores que relacionan estos resultados con la fabricación de productos para uso en seres humanos y animales³⁰ por ser un ensayo barato, rápido y sencillo que obtiene resultados estadísticos reproducibles y confiables, sin hacer uso de suero animal³¹, los huevos de *A. salina* se incuban a una temperatura de 30°C en un medio de cultivo apropiado como se puede observar en los parámetros de la tabla 8, posterior a la eclosión se hace la inclusión de las concentraciones definidas previamente a evaluar para realizar el ensayo y una comparación con los resultados de la prueba antibacteriana de pozos que se realizó sobre siete cepas bacterianas *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis* entre estas cepas encontramos bacterias gram positivas, gram negativas, con capacidad para generar esporas, con y sin flagelos como se mostrará más adelante.

2.1 BIOENSAYO CON ARTEMIA SALINA

Para realizar el ensayo con *A. Salina* es necesario realizar la adecuación del método para asegurar buenos resultados y así garantizar que la variable de supervivencia no se verá afectada por factores externos a la concentración de los extractos o dosis, por esta razón se adecuó principalmente la metodología partiendo del Manual Para el Cultivo de *Artemia Salina* de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.³²

La metodología de adecuación se define como la estandarización del ensayo y las posibles variables que puede tener, en este caso los principales valores son la concentración salina, el rango de pH, la temperatura de incubación, la densidad de nauplios, esto se realiza mediante varios ensayos dependiendo la variable a estandarizar.

A. Medio de cultivo: Para el medio de cultivo se realizan ensayos variando la cantidad de bicarbonato de sodio, sacarosa y cloruro de sodio de esta manera

³⁰ FERNÁNDEZ-CALIENTE VALDÉS, Aymé, et al. Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina*. Rev Cubana Med Trop. Vol. 61. N°3. Ciudad de la Habana. 2009.

³¹ PINO, Oriela. LAZO, Fanny Jorge. Ensayo de *Artemia*: Útil herramienta de trabajo para ecotoxicólogos y químicos de productos naturales. Revista Protección Vegetal de La Habana. 2010.

³² SORGELOOS, Patrick. Et al. Manual para el cultivo y uso de *Artemia* en acuicultura. [En línea]. Disponible en internet: <http://www.fao.org/3/contents/ffb7b54e-65ee-5d8f-bfdb-85022dbed29a/AB474S00.htm#TOC>

se asegura los nutrientes esenciales y el control de pH del medio, cuya variación influye en la eclosión y muerte de los nauplios.

- B. Temperatura: La FAO³³ sugiere que la temperatura sea entre 25-30°C, sin embargo menciona que entre más se acerque al valor de 30°C mejor será la eclosión, por esta razón se define este valor de 30°C para que todos los ensayos tengan la misma validez.
- C. pH: Según los parámetros de la FAO³⁴ el pH debe oscilar en el rango de 7 a 8.5, al ser un rango tan amplio se procede a minimizar los errores, sugiriendo un rango de 8-8.5 teniendo en cuenta que el medio de cultivo está en este rango en un primer lugar.

2.1.1 Parámetros para el cultivo de *Artemia salina*. El cultivo de *Artemia salina* se realiza mediante las indicaciones impuestas por la FAO para obtener una buena eclosión, se toma este protocolo para posteriormente adecuar la metodología y obtener un medio cultivo adecuado y la cantidad de nauplios necesarios para realizar la prueba de toxicidad.

En el manual mencionado anteriormente podemos encontrar parámetros específicos tales como temperatura, pH, salinidad, oxígeno e iluminación tal y como se presenta en la tabla 8 donde se puede observar que la solución salina debe ser del 5%, el pH debe encontrarse entre 7 y 8.5 y la temperatura entre 25-30°C.

Tabla 8. Parámetros establecidos en el manual de la FAO para el cultivo de *Artemia Salina*³⁵

Parámetro	Valor
Temperatura	25°C-30°C
pH	7-8.5
Salinidad	5%
Oxígeno	Aireación constante

³³ SORGELOOS, Patrick, et al. Manual para el cultivo y uso de Artemia en acuicultura. [En línea]. Disponible en internet: <http://www.fao.org/3/contents/ffb7b54e-65ee-5d8f-bfdb-85022dbed29a/AB474S05.htm#ch5.1.1>

³⁴ Ibid.

³⁵ Ibid.

Tabla 8. (Continuación)

Iluminación	12 horas de luz y 12 horas de oscuridad
Densidad de nauplios	No sobrepasar 5 gramos de quistes por Litro

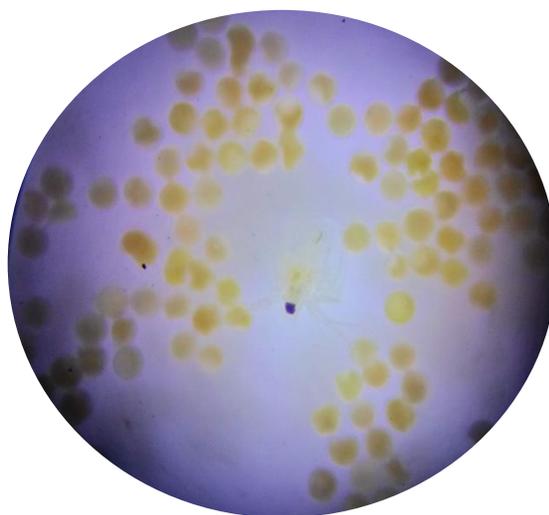
Tabla 9. Taxonomía de la *Artemia salina* según el manual para el cultivo de *Artemia salina* de la FAO

Phylum	Artrópoda
Clase	Crustacea
Subclase	Branquiopoda
Orden	Anostraca
Familia	Artemiidae
Género	Artemia, Leach 1819

Fuente: Manual para el cultivo de Artemia salina

A continuación, se podrá observar una fotografía tomada en el Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis de los huevos de la *Artemia salina* y uno de los nauplios después de la eclosión, de tal manera que se puede apreciar el color del micro crustáceo que se utilizará en las pruebas de toxicidad.

Foto 4. Artemia salina y huevos sin eclosionar



Los parámetros de adecuación surgen de una revisión bibliográfica³⁶ y permite delimitar aquellos indicadores que son relevantes para mantener un organismo vivo, sin que sus condiciones de supervivencia sean otra variable de la investigación. Para el caso de la toxicidad, el pH, salinidad, fotoperiodo, oxígeno, cantidad de nauplios y temperatura son parámetros establecidos durante todo el desarrollo de la investigación siendo de esto que depende en primer lugar la selección de la especie promisoría.

2.1.2 Parte experimental. A continuación, se mencionan los materiales de laboratorio, las cepas bacterianas sobre las cuales se realizaron las pruebas para determinar el poder inhibitorio, los equipos y reactivos necesarios para la evaluación de la actividad antibacteriana y la toxicidad de los extractos vegetales.

2.1.2.1 Material de laboratorio

- Matraz Erlenmeyer
- Tubos de ensayo
- Micropipetas
- Frascos de vidrio ambar
- Pipetas Pasteur
- Beakers
- Aireador eléctrico
- Espátula
- Mezclador
- Gradillas
- Cajas de Petri

2.1.2.2 Equipos

- Incubadora E&Q
- pH-metro FIELDSCOUT
- Plancha magnética NAHITA
- Balanza analítica OHAUS

2.1.2.3 Reactivos

- Alcohol etílico al 96% y al 70%
- Agua desionizada
- Ácido clorhídrico diluido MolLabs
- Hidróxido de sodio diluido Scharlau
- Agar Mueller Hinton (AMH) Merck KGaA
- Dimetilsulfóxido (DMSO) Merck KGaA
- Cloruro de sodio (Sal marina Refisal)

³⁶ SORGELOOS, Patrick, et al. Manual para el cultivo y uso de Artemia en acuicultura. [En línea]. Disponible en internet: <http://www.fao.org/3/content/ffb7b54e-65ee-5d8f-bfdb-85022dbed29a/AB474S00.htm>

- Bicarbonato de sodio
- Sacarosa Scharlau

2.1.2.4 Cepas bacterianas

- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 300053
- *Escherichia coli** ATCC 25922
- *Pseudomonas aeruginosa** ATCC 9027
- *Salmonella typhimurium** ATCC 14028
- *Staphylococcus aureus** ATCC 25923
- *Bacillus subtilis** ATCC 6633
- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

2.1.2.5 Material Botánico

- Poleo (*Lippia turbinata* Griseb.)
- Canelo de páramo (*Drimys granadensis* L.f.)
- Valeriana (*Valeriana triphylla* Kunth)

2.1.2.6 Organismos

- *Artemia salina*

2.1.3 Adecuación de la metodología para medir la toxicidad de las especies vegetales mediante *Artemia salina*. Se realizó un ensayo con una solución salina del 5% como establece la FAO en la tabla 8, se verificó un pH en un rango de 8 a 8,5 y se aseguró la temperatura de 30°C mediante una incubadora y un termómetro, al igual que un fotoperiodo de 12 horas y aireación continua.³⁷

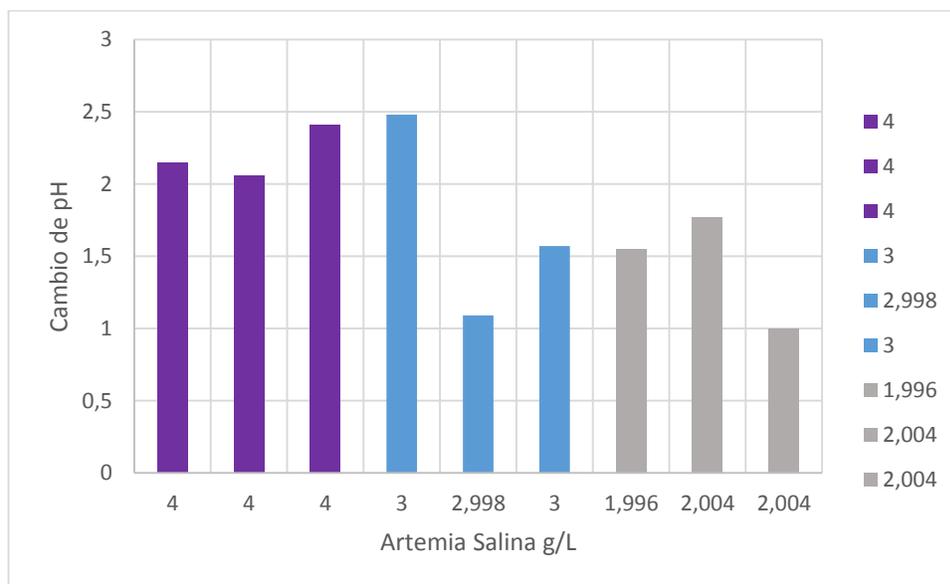
Se prepararon 3 soluciones cada una con 3 réplicas, la primera con 4g/L de A.s, la segunda con 3 g/L de A.s y la tercera con 2 g/L de A.s en la solución salina, se propone establecer la densidad apropiada en donde no varíe el pH fuera del rango previamente establecido, se controla el pH por 2 días previos a la eclosión de los nauplios para verificar la posible eclosión y ajustar esta variable de tal manera que no sea una variable más en el ensayo.

³⁷ SORGELOOS, Patrick, et al. Manual para el cultivo y uso de Artemia en acuicultura. [En línea]. 2009 [Citado el 20-Feb-2017] Disponible en internet: <http://www.fao.org/3/contents/ffb7b54e-65ee-5d8f-bfdb-85022dbed29a/AB474S05.htm#ch5.1.1>

Tabla 10. Medición de pH bioensayo Artemia salina 1

	Frasco N°	Artemia Salina (g/L)	pH Día 1	pH Día 2	pH Ajustado
1	1	4	8.45	6.30	8.24
	2	4	8.19	6.13	8.01
	3	4	8.25	5.84	8.27
	4	3	8.31	5.83	8.30
2	5	2,998	7.52	6.43	8.25
	6	3	7.89	6.32	8.05
	7	1,996	8.2	6.65	8.03
3	8	2,004	8.4	6.63	8.32
	9	2,004	7.7	6.72	8.20

Gráfica 1. Cambio de pH inicial día 1 a día 2 dependiendo de los gramos de *Artemia salina* por L de solución salina.



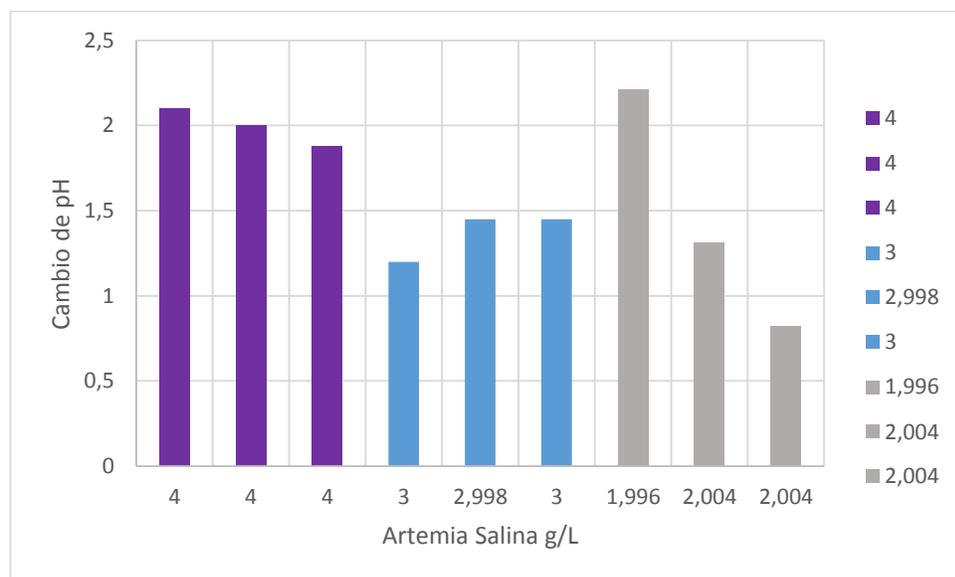
Se realizó nuevamente esta prueba para escoger que densidad de nauplios no altera de manera significativa el pH de la solución permitiendo control efectivo y la

disminución de errores, los resultados de la prueba realizada nuevamente se observan en la tabla 11, junto con la gráfica 2 que representa el cambio de pH con respecto a la densidad de nauplios.

Tabla 11. Medición de pH bioensayo *Artemia salina* 2

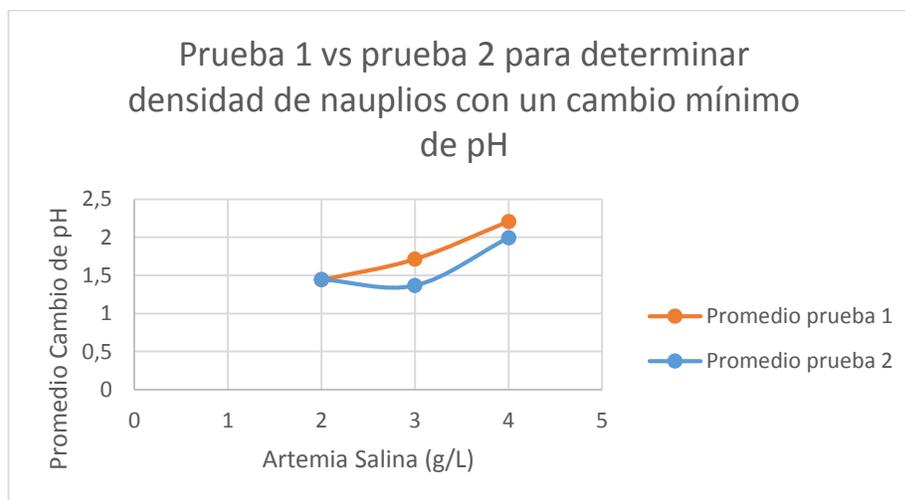
Frasco N°	<i>Artemia salina</i> (g/L)	pH Día 1	pH Día 2	pH Ajustado
1	4	8.40	6.30	8.06
2	4	8.20	6.20	8.10
3	4	8.18	6.30	8.30
4	3	8.20	7.0	8.50
5	2.998	8.15	6.70	8.30
6	3	8.05	6.60	8.40
7	1.996	8.41	6.20	8.40
8	2.004	8.31	7.00	8.50
9	2.004	8.12	7.30	8.05

Gráfica 2. Cambio de pH inicial día 1 a día 2 dependiendo de los gramos de *Artemia salina* por L de solución salina.



Se concluye que el pH tiene una tendencia a ser ácido a medida que la densidad de nauplios crece, por esta razón se toma la decisión de trabajar el bioensayo con 2 g/L de *Artemia salina*, debido al cambio notorio de un pH de 8 a 7 se realizó una adecuación del medio de cultivo adicionando nutrientes y controladores de pH como hidróxido de sodio diluido y ácido clorhídrico diluido.

Gráfica 3. Cambio en el pH de la solución salina dependiendo de la cantidad de *Artemia salina*.



Se tomó como base el protocolo redactado en la FAO³⁸ que se mencionó anteriormente y para mejorar la eclosión y asegurar una cantidad adecuada de organismos para realizar la prueba, se adiciona al medio de cultivo bicarbonato de sodio (0,05%) que actúa en el medio como buffer o disolución amortiguadora manteniendo controlado el pH y sacarosa (0,2%) en las siguientes cantidades para 1 L de agua.

Tabla 12. Medio de cultivo con nutrientes adicionales.

	Cloruro de sodio (g/L)	Bicarbonato de sodio (g/L)	Sacarosa (g/L)
1	49.996	0.500	2.000
2	50.006	0.506	2.000
3	50.004	0.484	2.000

³⁸SORGELOOS, Patrick, et al. Manual para el cultivo y uso de Artemia en acuicultura. [En línea]. 2009 [Citado el 20-Feb-2017] Disponible en internet: <http://www.fao.org/3/contents/ffb7b54e-65ee-5d8f-bfdb-85022dbed29a/AB474S05.htm#ch5.1.1>

Tabla 12. (Continuación)

4	50.012	0.500	2.000
5	50.000	0.500	2.000
6	50.000	0.496	2.000
7	50.004	0.494	2.030
8	50.060	0.502	2.000
9	50.080	0.5000	2.000

Finalmente se montan nuevamente cinco frascos con las cantidades de As que se muestran en la tabla 13 utilizadas únicamente para observar la influencia de la *Artemia salina* con un tiempo mayor a 3 meses y la As adquirida recientemente.

Tabla 13. Metodología adecuada y bioensayo con diferentes muestras de Artemia Salina, control de pH.

Frasco N°	<i>Artemia Salina</i> (g/L)	pH Día 1	Observaciones	pH Día 2
1	0.502	8.10	<i>Artemia salina</i> en buenas condiciones	8.40
2	0.504	8.40	<i>Artemia salina</i> en buenas condiciones	8.45
3	0.500	8.30	<i>Artemia salina</i> en buenas condiciones	8.40
4	0.500	8.56	<i>Artemia salina</i> con 3 meses de antigüedad	8.54
5	0.000	8.48	Medio sin <i>Artemia</i> para control de pH	8.48

Según las diferentes características de la As agregada se nota una variación en el pH y en la eclosión de los huevos, en el medio sin huevos el pH se mantuvo estable al igual que en los frascos con As en buenas condiciones, sin embargo, la As con tres meses de antigüedad no presentó eclosión y si un pH por encima del rango establecido previamente (8-8.5).

De esta manera quedaron establecidas las siguientes condiciones para el medio de cultivo y para las condiciones externas.

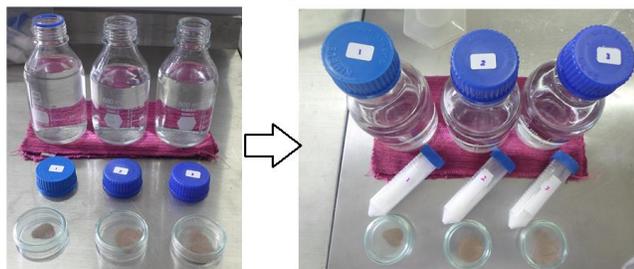
Tabla 14. Especificaciones establecidas para el cultivo de *Artemia salina* y la eclosión de los huevos según la adecuación realizada anteriormente.

Medio de cultivo en medio acuoso				
Sal marina (g/L)	Bicarbonato de sodio (g/L)	Sacarosa (g/L)	<i>Artemia salina</i> (g/L)	pH
50	0.50	2	2	8-8.5

Tabla 15. Parámetros establecidos para el cultivo de *Artemia salina* y la eclosión de los huevos según la adecuación realizada anteriormente.

Parámetros			
Luz	Oscuridad	Oxigeno(Aireadores acuario)	Temperatura
12 horas/día	12 horas/día	24 horas/día	30°C

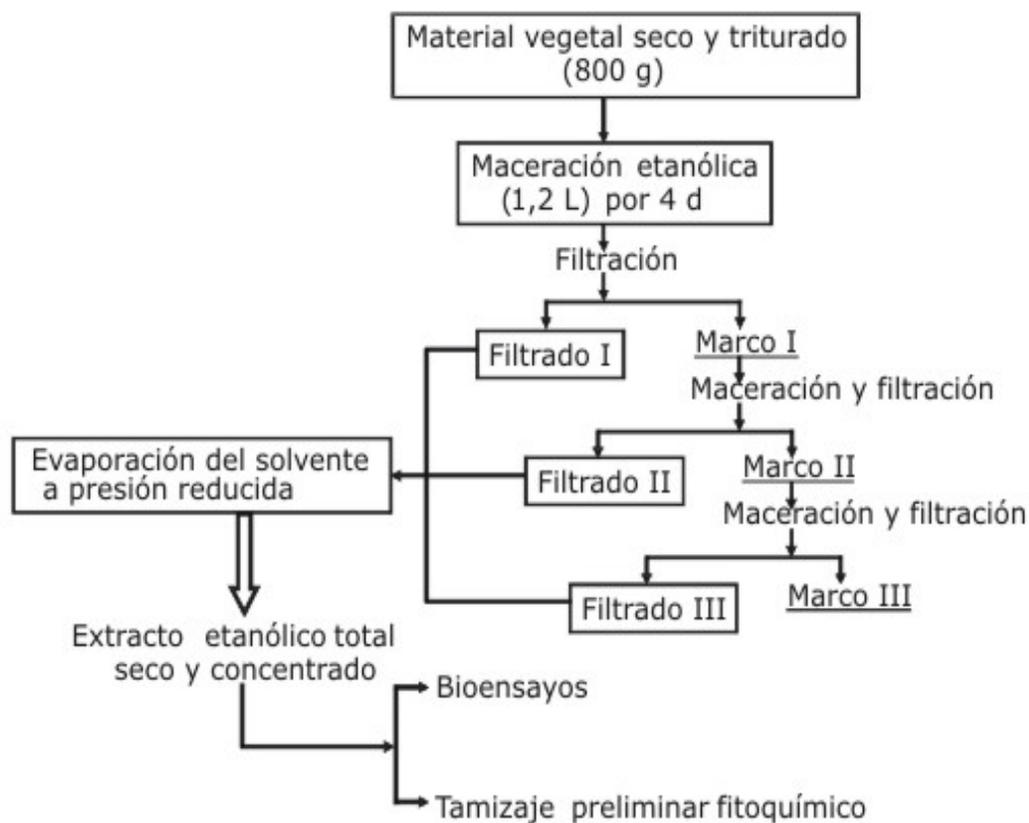
Foto 5. Adecuación de la metodología para el bioensayo con *Artemia salina*



2.1.4 Obtención de extractos etanólicos y aceites esenciales de las especies.

Los extractos vegetales de las tres especies utilizadas en el ensayo fueron extractos etanólicos obtenidos mediante maceración como se ilustra en la figura 1.

Figura 1. Diagrama obtención extractos vegetales etanólicos.



Fuente: Química y biología del extracto etanólico del epicarpio de *Crescentia cujete* L. Universidad de Cartagena Colombia.³⁹

En la foto 6 se puede observar la imagen de algunos de los extractos obtenidos por maceración para realizar el bioensayo, como extracto etanólico del canelo de páramo y Poleo (*Lippia turbinata*).

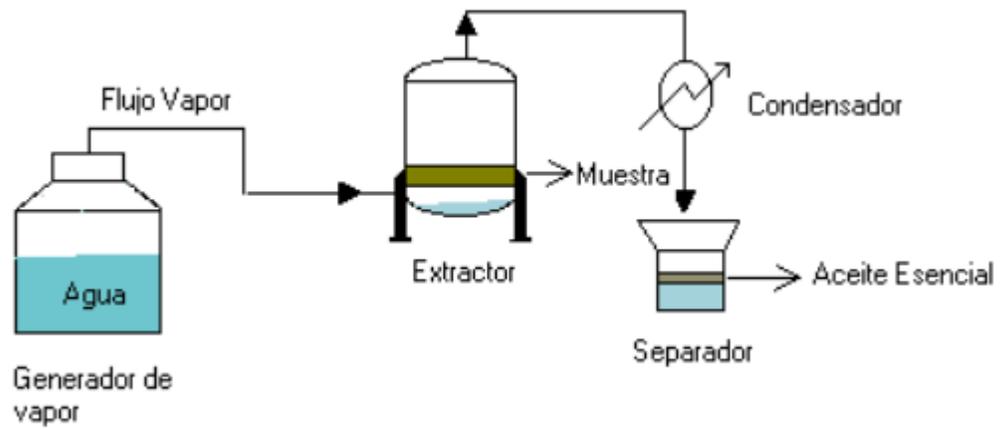
³⁹ ESPITIA, Jorge. Química y biología del extracto etanólico el epicarpio de *Crescentia cujete* L. Universidad de Cartagena de Colombia. 2011.

Foto 6. Extractos Etanólicos obtenidos de las especies seleccionadas.



Los aceites esenciales se obtuvieron mediante el método de arrastre por vapor como se ilustra en la figura 2 y según el montaje de laboratorio que se observa en la foto 7.

Figura 2. Obtención aceite esencial a partir de especies vegetales Alto andinas



Fuente: Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas.⁴⁰ p,40.

Foto 7. Montaje para la obtención de aceite esencial de Poleo (*Lippia turbinata* Griseb).



⁴⁰ GONZALEZ, Angela. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas.

2.1.5 Definición de variables. La variable a evaluar es la supervivencia o mortalidad de un número determinado en este caso se estableció la realización del ensayo con 10 nauplios por cada tubo de ensayo, para una concentración dada de extracto (X-cause del fenómeno objeto de estudio). Es decir, se evalúa: Concentración Vs Supervivencia. Por cada concentración se realizan 3 réplicas, 5 repeticiones y de esta manera se garantiza la obtención de los datos, después de agregar 9.960 mililitros de medio de cultivo con las especificaciones establecidas en la adecuación, posteriormente se agregan los 10 nauplios en cada uno de los tubos variando la concentración de extracto y después de 24 horas se evalúa la supervivencia contando el número de nauplios que viven en el momento de la revisión.

Para el bioensayo se establecen 10 concentraciones de cada extracto vegetal a evaluar que abarcan desde 1.2 µg/mL hasta 1000 µg/mL como se observa en la tabla 16 para tener un rango específico a evaluar.

Tabla 16. Concentraciones de extracto para el bioensayo.

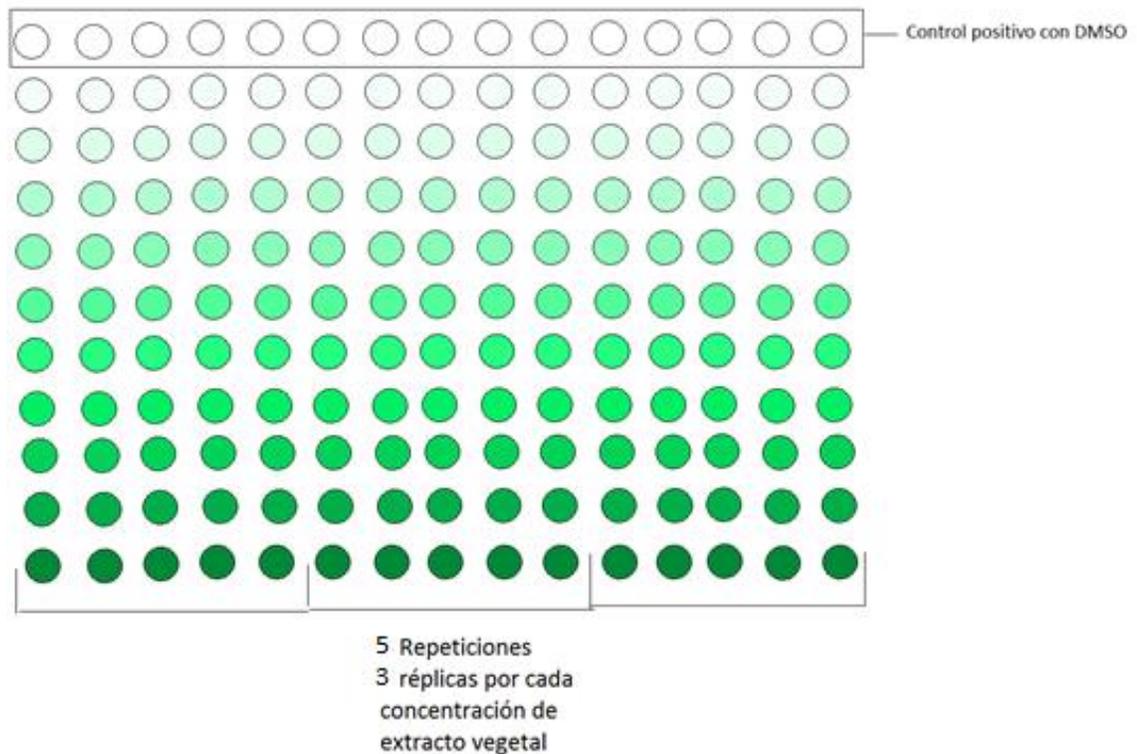
Nº	Concentración [µg/mL]
0	1,2
1	2,4
2	4,8
3	10
4	20
5	48
6	100
7	160
8	320
9	640
10	1000

2.1.6 Metodología para el bioensayo. Se preparó el medio de cultivo según la adecuación previa, posteriormente se deja en eclosión y crecimiento durante 3 días, en este día se presenta la mayor eclosión y los nauplios cuentan con un tamaño apropiado para ser contados y agregados en los tubos de ensayo correspondientes.

En tubos de ensayo de 15 mL se agrega 9.960 mL de medio previamente aireado por 12 horas, 0.040 mL de extracto vegetal según las concentraciones 0, 1.2, 2.4, 4.8, 10, 20, 48, 100, 160, 320, 640, 1000 µg/mL, se hacen 5 repeticiones y 3 réplicas por cada concentración para un total de 15 tubos de ensayo por concentración, en cada pozo se agregan 10 nauplios de *Artemia salina*.

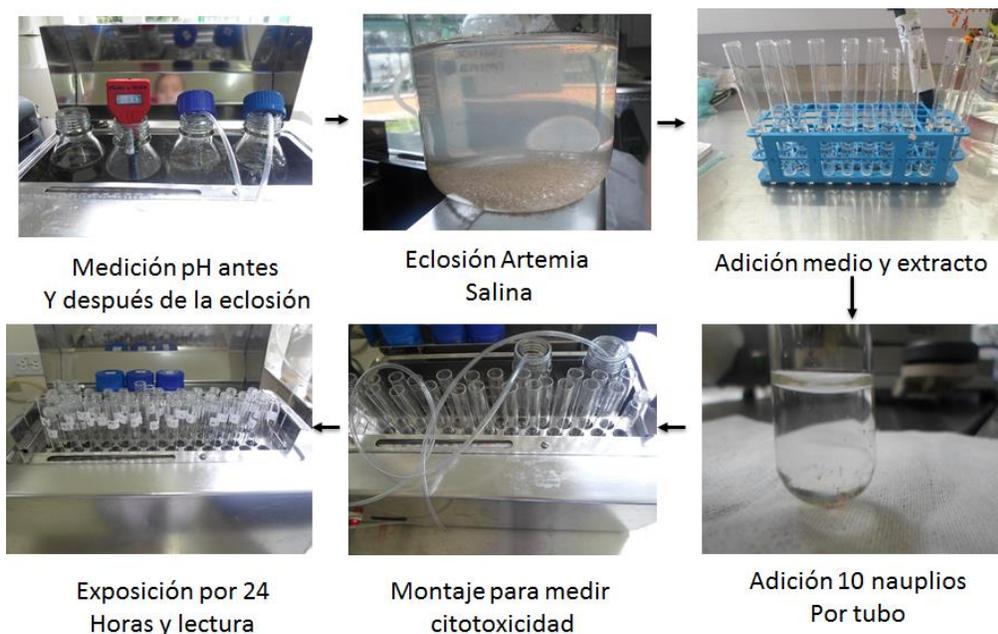
Adicional se preparan 5 repeticiones y 3 réplicas adicionando el control con Dimetil Sulfoxido (DMSO) y agua con 9.960 mL de medio de cultivo previamente aireado y 0.040 mL de los controles ya sea DMSO o agua, según el diseño experimental que se muestra en la figura 3.

Figura 3. Diseño experimental bioensayo con *Artemia salina* con cada extracto de las especies vegetales a evaluar.



Transcurridas 24 horas se observa y se cuantifica la letalidad de la *Artemia salina* para determinar la toxicidad de la especie vegetal ya sea extracto o aceite esencial.

Figura 4. Metodología bioensayo con *Artemia salina*.



2.1.7 Selección de las especies según bioensayo de toxicidad. El bioensayo de toxicidad arrojó los siguientes resultados resumidos en la tabla 17.

Tabla 17. Porcentaje de mortalidad de *Artemia salina* con respecto a las concentraciones de extractos vegetales de las especies *Drimys granadensis*, *Valeriana triphylla* Kunth y *Lippia turbinata* Griseb.

Concentración Nº	<i>Drimys granadensis</i>	<i>Valeriana triphylla</i>	<i>Lippia turbinata</i>
	% Mortalidad	% Mortalidad	% Mortalidad
Control Agua	0	0	0
Control Dimetil Sulfoxido	1,3	1,5	1
1	14	11	2
2	23	11	11
3	39	15	14
4	51	22	22
5	59	25	26
6	70	38	29
7	95	38	37
8	100	39	44
9	100	39	47
10	100	46	49

Para determinar la dosis letal media en *Artemia Salina* de los extractos de las especies vegetales evaluadas se realiza un análisis estadístico con la función Probit y se obtienen los resultados de la tabla 18.

Tabla 18. Dosis letal media de los extractos de las especies vegetales evaluadas.

Especie vegetal	DL50 (Dosis letal media) [$\mu\text{g}/\text{mL}$]
Canelo de páramo (<i>Drimys granadensis</i>)	17,57
Poleo (<i>Lippia turbinata</i> Griseb)	635,38
Valeriana (<i>Valeriana triphylla</i> Kunth)	1284,39

Según los resultados obtenidos se descarta el *Drimys granadensis* por presentar una toxicidad elevada, sin embargo, se realiza la prueba antibacteriana para evaluar su actividad antibacteriana y posibles usos industriales en productos para superficies y derivados.

2.2 CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DE LAS ESPECIES VEGETALES CON CARACTERÍSTICAS ANTIBIÓTICAS

2.2.1 Preparación de las concentraciones a evaluar de las especies vegetales.

Se preparó una solución stock o solución madre de 128 mg/mL⁴¹ para lograr una correcta dilución y evaluar el extracto vegetal en las concentraciones establecidas que se observan en la tabla 19, cuya concentración máxima fue de 32 mg/mL.

⁴¹ MALBRÁN, Carlos. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución, (2012). Vol.32. Clinical and laboratory standards institute. p,13.

Tabla 19. Concentraciones en [mg/ml] de extracto de cada solución para la prueba de pozos

Solución N°	Concentración [mg/mL]
1	0
2	2
3	4
4	8
5	16
6	32
Stock	128

2.2.1.1 Activación de las bacterias. Para la activación de las bacterias se utilizan tubos de ensayo de 20x150 mm con 15 mL de solución salina al 0,85% p/v y se inoculan las diferentes cepas adicionando con un asa las cepas a cada tubo previamente identificado y etiquetado, se incubaron por 24 horas a 37°C.

2.2.2 Poder inhibitorio mediante prueba de pozos. En placas de 24 pozos se depositaron verticalmente las 6 concentraciones mencionadas anteriormente, en la primera columna que cuenta con 4 pozos y la última fila con 6 pozos se agrega 1 mL de Agar Mueller Hinton (AMH), de esta manera se obtiene en la primera columna la concentración 0 mg/mL y en la última fila el control del medio y el control de DMSO, para el control se agrega 0.003 mL de DMSO, en los demás pozos se agregan las siguientes cantidades de extracto y AMH para asegurar las concentraciones deseadas, según el método de pozos modificado como se puede observar en la foto 8.

Foto 8. Método modificado de pozos de agar por placa y cepa bacteriana.

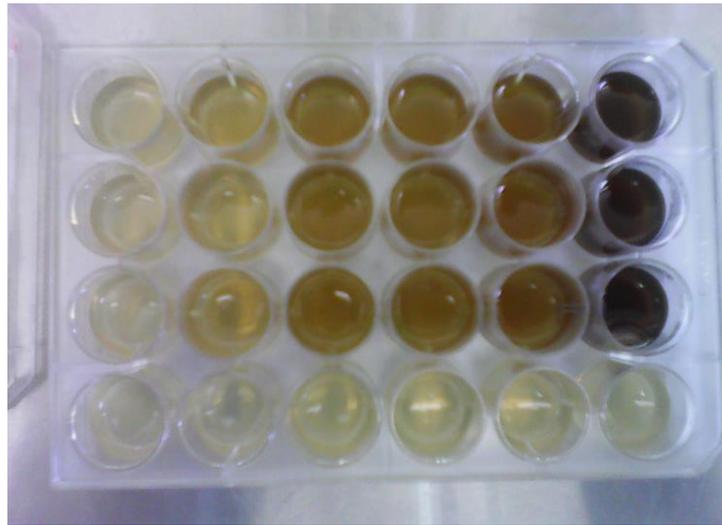


Tabla 20. Concentraciones [mg/ml], cantidad de extracto [μ L] y AMH en [μ L] por pozo.

Concentración [mg/ml]	Agar Mueller Hinton	Extracto Vegetal
0	1000 μ L	0
2	15 μ L	985 μ L
4	35 μ L	965 μ L
8	65 μ L	935 μ L
16	125 μ L	875 μ L
32	250 μ L	750 μ L

Posteriormente se agregó 0,003 mL de bacteria una por placa para asegurar el crecimiento de colonia, al ser siete bacterias se realizaron 7 placas por cada extracto de las especies vegetales y aceite esencial para el Poleo, se sigue el mismo proceso con la excepción de las concentraciones que cambian para el aceite debido a que al ser un aceite esencial su concentración es mayor y se manejaron las mismas concentraciones pero en μ g/mL en la prueba de pozos.

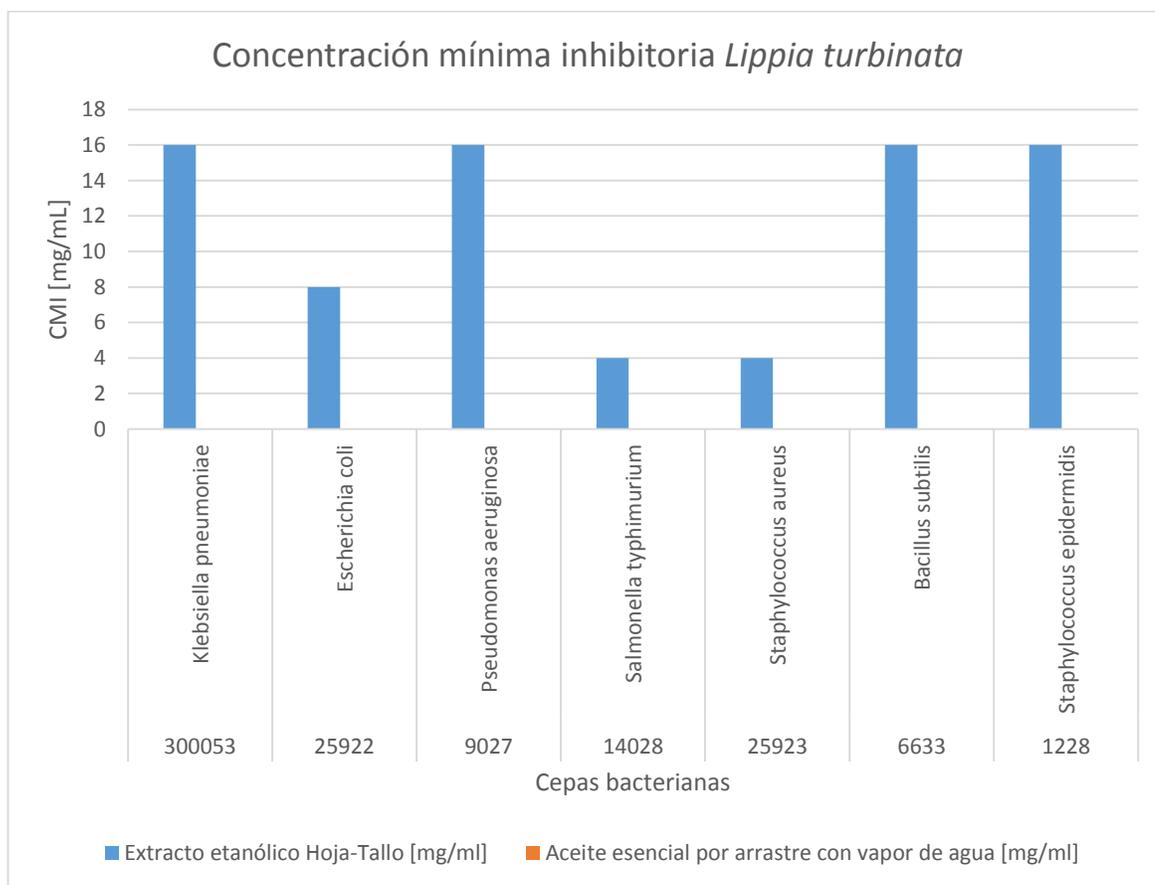
La prueba antibacteriana se hace en las siete cepas nombradas anteriormente en la tabla 7 debido a su reconocimiento y suficiencia de datos y literatura que permite validar los resultados obtenidos.

Luego de realizada la prueba de pozos, las placas se introducen a la incubadora por 24-48 horas a 37°C para garantizar las condiciones de crecimiento de las bacterias y se observa la presencia o ausencia transcurrido este plazo.

Para seleccionar la especie vegetal promisoría y el extracto o aceite con mejores resultados se realiza la comparación de los resultados, según cepa bacteriana, tejido de la especie, solvente y concentración mínima inhibitoria.

Teniendo en cuenta el resultado de la actividad antibacteriana y la toxicidad de cada especie vegetal se procede a realizar una selección favorable, sin pasar por alto las ventajas y desventajas de cada especie como se mostrará más adelante.

Gráfica 4. Concentración mínima inhibitoria de la especie *Lippia turbinata* frente a las 7 cepas bacterianas.



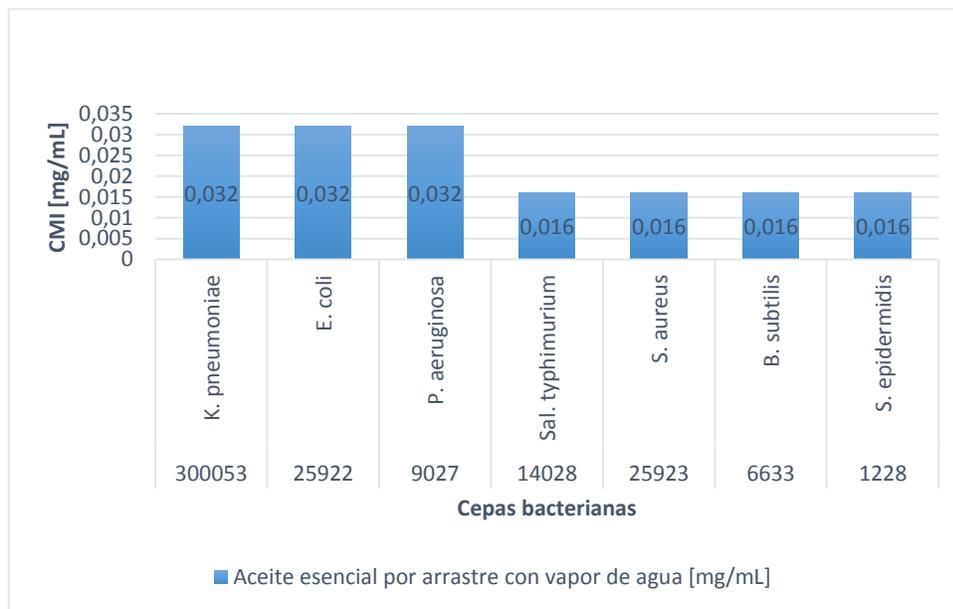
En la gráfica 4 se pueden observar las barras azules que representan la concentración de extracto Etanólico de la hoja y el tallo de la especie Poleo (*Lippia turbinata*) sin embargo es difícil observar las barras de color rojo que representan la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial, esto se debe a que la concentración necesaria de aceite esencial es muy baja y por esta razón no es posible observarlo fácilmente en esta gráfica, se resalta que la CMI del aceite esencial de hojas de la especie Poleo (*Lippia turbinata* Griseb) extraído mediante arrastre con vapor de agua está entre 16 µg/mL y 32 µg/mL.

En la tabla 21 se puede ver claramente los datos representados en la gráfica 4, que no se pueden observar con detalle por la diferencia en las concentraciones mínimas inhibitorias de los dos extractos vegetales evaluados para el Poleo arbustivo (*Lippia turbinata*), posteriormente en la gráfica 5 se observan los valores de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial para cada una de las cepas bacterianas evaluadas.

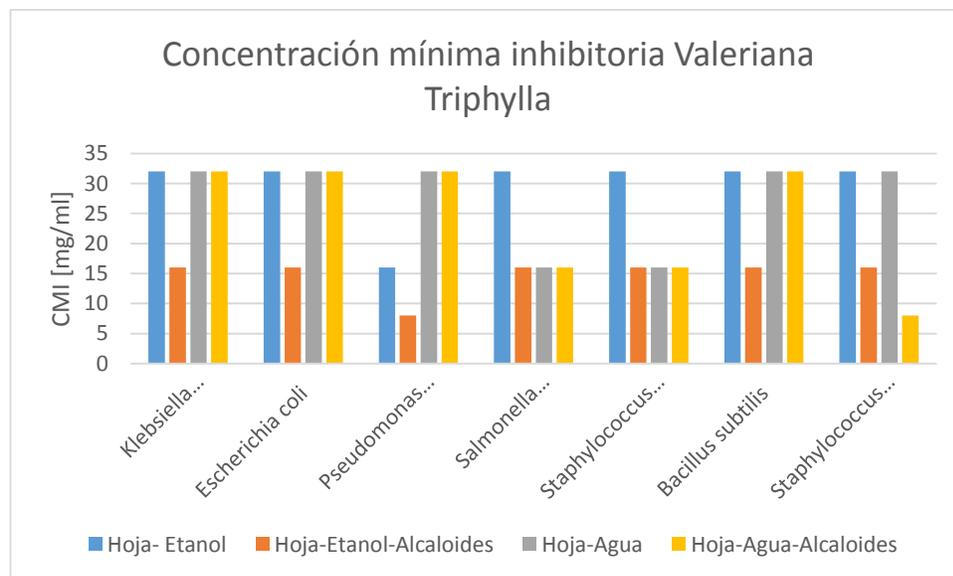
Tabla 21. Concentración mínima inhibitoria obtenida en la prueba de pozos, para el extracto Etanólico y el aceite esencial de las hojas de Poleo (*Lippia turbinata*).

ATCC	Bacteria	Extracto Etanólico Hoja-Tallo [mg/ml]	Aceite esencial por arrastre con vapor de agua [mg/ml]
300053	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16	0,032
25922	<i>Escherichia coli</i>	8	0,032
9027	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	0,032
14028	<i>Salmonella typhimurium</i>	4	0,016
25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	0,016
6633	<i>Bacillus subtilis</i>	16	0,016
1228	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	16	0,016

Gráfica 5. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de Poleo.

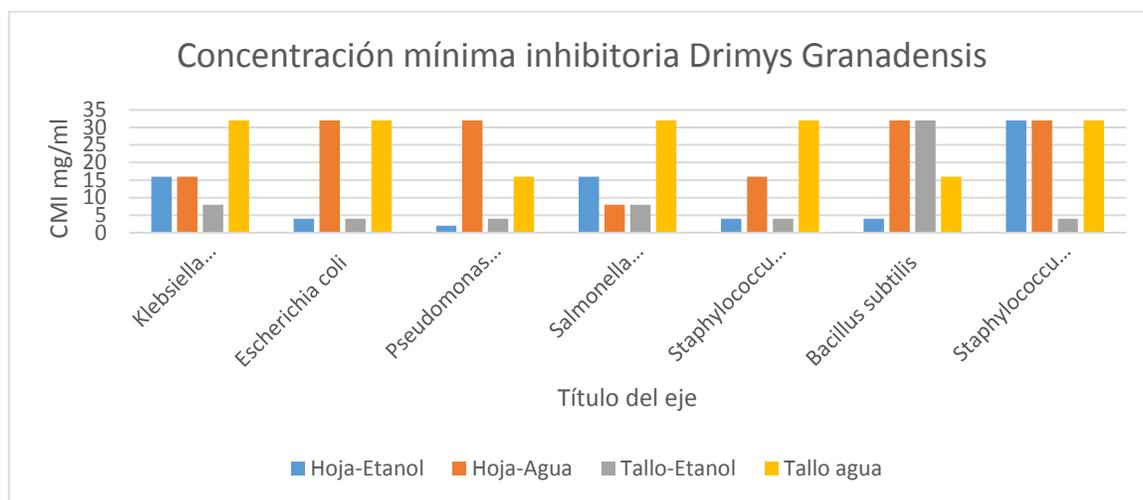


Gráfica 6. Concentración mínima inhibitoria de la especie *Valeriana triphylla* Kunth frente a las 7 cepas bacterianas.



En la gráfica 6 se puede observar que el extracto etanólico a partir de los alcaloides de la hoja de la *Valeriana triphylla* Kunth es el que presenta una CMI menor con 8 y 16 mg/mL a diferencia de los otros extractos de la misma especie que inhiben en promedio en 32 mg/mL.

Gráfica 7. Concentración mínima inhibitoria de la especie Canelo de páramo (*Drimys granadensis*) frente a las 7 cepas bacterianas.



En la gráfica 7 se puede observar que los extractos etanólicos de hoja y tallo de la especie *Drimys granadensis* presentan una inhibición mayor a comparación de los extractos de hoja y tallo en agua, inhibiendo cepas desde 4 mg/mL.

Según los resultados obtenidos se procede a realizar el producto con la especie *Lippia turbinata* en aceite esencial debido a su baja toxicidad y poder inhibitorio además de las propiedades organolépticas que posee, los extractos vegetales tienen un color verde, amarillo y café o mezclas entre estos tres colores, sin embargo los aceites esenciales son incoloros por lo que es más fácil incluir en la fabricación de cualquier producto, por otra parte el olor más agradable es el de la *Lippia turbinata* por su origen aromático, al realizar la comparación con la *Valeriana triphylla Kunth* que posee un olor desagradable, abundante y persistente y el que posee un olor suave e imperceptible, se aumenta la preferencia por trabajar con el poleo debido a su olor, color y actividad antibacteriana. En la tabla 22 se denotan las ventajas y desventajas de cada especie vegetal evaluada para resumir los resultados obtenidos y respaldar la selección de la especie vegetal promisorio para la elaboración de un producto.

Tabla 22. Ventajas y desventajas de las especies vegetales Alto Andinas evaluadas.

Especie vegetal	Ventajas	Desventajas
<p>Canelo de paramo (<i>Drimys granadensis</i>)</p>	<p>Poder inhibitorio de 4 mg/mL a 32 mg/mL según el tejido del cual se obtiene el extracto vegetal y la bacteria sobre la cual actúa.</p> <p>La dosis letal media de esta especie es alta y ocasiona limitaciones para la elaboración de productos, siendo esta de 17,57 µg/mL.</p> <p>El olor del extracto no es desagradable ni intenso, por lo tanto, sería fácil incorporarlo en la fabricación de un producto y sería una variable a modificar sin problema.</p>	<p>El color del extracto se sitúa entre verde y café por lo tanto no es atractivo para un producto comercial cosmético.</p> <p>La mortalidad de los nauplios en la prueba con A.s fue alta obteniendo una mortalidad superior al 96%, siendo un bioindicador para evitar su uso en productos de contacto directo con el ser humano.</p>
<p>Poleo (<i>Lippia turbinata</i>)</p>	<p>Olor y color favorables para la fabricación de un producto, al obtener el aceite esencial de esta especie como característica de los aceites el color es favorable para un producto comercial, por otra parte, el olor es agradable y fresco.</p> <p>La dosis letal media sobre Artemia Salina es de 635,38 µg/mL</p>	<p>El rendimiento del aceite esencial es muy bajo y representa costos por la cantidad de material vegetal necesario para lograr una cantidad suficiente de aceite esencial.</p>

Tabla 22. (Continuación)

	<p>permitiendo utilizar una cantidad considerable en los productos y teniendo en cuenta que el poder inhibitorio de esta especie se obtiene con una CMI de 16 a 32 $\mu\text{g/ml}$, por lo que a comparación de los otros extractos es muy baja y promisoria.</p>
<p><i>Valeriana (Valeriana triphylla Kunth)</i></p>	<p>Esta especie presentó la toxicidad más baja y una dosis letal media sobre <i>Artemia salina</i> de 1284,39 $\mu\text{g/mL}$, sin embargo, la CMI de esta especie en todos los extractos vegetales evaluados se obtuvo entre 16 y 32 mg/mL, por esta razón a comparación de las otras especies es muy alta y no es promisoria.</p> <p>El olor de los extractos vegetales es desagradable, por esta razón no es atractivo para un producto comercial, al ser tan intenso el olor es difícil cubrirlo con otro producto.</p>

3. FORMULACIÓN DE UN PRODUCTO BIOACTIVO CON BASE EN UNA ESPECIE VEGETAL ALTOANDINA

Con la obtención de la especie promisoriosa y en cumplimiento a los objetivos del trabajo se procede a proponer un producto que cumpla con las características deseadas, para posteriormente evaluar su efectividad antibacteriana mediante pruebas *in vivo* e *in vitro*, que incluyen la prueba de manipuladores, difusión de discos y pruebas organolépticas y fisicoquímicas por un plazo establecido.

3.1 SELECCIÓN DEL PRODUCTO A DESARROLLAR

En cumplimiento al objetivo propuesto y teniendo en cuenta los resultados obtenidos respecto a la actividad antibacteriana encontrada en la especie vegetal, se procede a realizar un gel sanitizante antibacterial, con el fin de reemplazar el bactericida sintético con el extracto vegetal, en pro del medio ambiente y la salud de los seres humanos.

Según un estudio realizado se ha podido determinar que dos de las bacterias más comunes en las manos de los seres humanos que ejercen actividades normales, son *S. epidermis* y *S. aureus*, siendo dos de las bacterias con acciones patógenas y comúnmente encontradas, por lo tanto se procede a realizar la prueba de efectividad antibacteriana *in vitro* con el producto final y bactericida natural.⁴²

Con el pasar de los años el uso de los antibacteriales ha crecido gradualmente encontrando elemento de limpieza para cada superficie, parte del cuerpo y demás con propiedades antibacterianas, cabe mencionar que los productos para higiene de manos específicamente han ocupado un lugar en el mercado, siendo una manera práctica de realizar la limpieza de las manos sin necesidad de acudir a un baño o lavabo que requiere de agua, jabón y toallas desechables para asegurar una correcta higiene de las manos, además cabe resaltar que según las materias primas utilizadas para la fabricación del producto se abre otro mercado y son los negocios verdes, los cuales constan de productos que puedan aprovechar sosteniblemente la diversidad biológica de Colombia.

Los geles antibacteriales en Colombia se catalogan como cosmeceúticos, debido a que el uso del producto se enfoca en la higiene de manos pero no es clínico o antiséptico, en Colombia según el Ministerio de ambiente y Desarrollo sostenible al 2009 habría un incremento del mercado de los cosmeceúticos al 9% en

⁴² CAMPUZANO, Silvia. ÁLVAREZ, Alicia y CAMACHO, Judith. Caracterización de la flora microbiana y revisión del estado de salud en individuos que laboran en laboratorios de diagnóstico. [En línea]. Disponible en internet: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/GUIACADEM1_4.pdf

comparación con el 1% del incrementos de los cosméticos en el país,⁴³ según estas cifras se puede observar el crecimiento del mercado de los productos cosméticos y aun mas de los productos cosméticos verdes, cabe resaltar las continuas amenazas que ha tenido este producto por los componentes poco aceptados por la sociedad por sus posibles consecuencias negativas, entre estos podemos nombrar el Triclosan cuyo uso ha sido prohibido en varios lugares del mundo como Estados Unidos y el Invima en Colombia para los productos antibacteriales, siendo rechazado para la producción de este tipo de gel para las manos y antibacteriales en general, otro de los factores que puede mejorarse es la producción de antibacterianos sin el uso del alcohol como el componente activo, por esta razón marcas reconocidas como Familia han disminuido este componente en la formulación del gel hasta no incluirlo más en sus formulaciones.

En este caso como se ha mencionado anteriormente se propone a realizar un gel antibacterial con un contenido bajo en alcohol con alrededor del 10% de alcohol etílico y sin componentes dañinos como el Triclosan, pero asegurando efectividad antibacteriana concedida por el aceite esencial obtenido del Poleo (*Lippia turbinata*).

3.1.1 Características. Los parámetros para desarrollar el producto a nivel comercial, además de la actividad antibacteriana y la toxicidad de la especie a utilizar, son el aspecto, las propiedades de aplicación del producto y las propiedades organolépticas. A continuación, se explicará brevemente que deben cumplir estos parámetros.

- A. Aspecto: El aspecto del producto es una característica importante dado que los usuarios tendrán la primera impresión del producto y puede ser un factor importante en la decisión del producto a comprar, el aspecto de los extractos vegetales en ocasiones no es muy llamativo debido al color verdoso o marrón que suelen poseer, sin embargo, los aceites esenciales no cuentan con color lo que lo hace agradable a la vista y facilita las coloraciones.
- B. Propiedades de aplicación del producto sobre la superficie de la piel: La textura del producto es un factor que debe tenerse en cuenta para satisfacer las expectativas impuestas por un producto antibacteriano y cosmético.
- C. Propiedades organolépticas: Uno de los factores más importantes para el producto a desarrollar es el olor y color, debido a que son propiedades que

⁴³MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE DE COLOMBIA. *Ministerio de ambiente*. [En línea]. Disponible en Internet: <http://www.minambiente.gov.co/index.php/component/content/article?id=513:plantilla-negocios-verdes-y-sostenibles-9>

pueden percibirse inicialmente y generan una primera expectativa a los usuarios sobre el producto.

3.1.2 Materias primas. En este caso el gel antibacterial, es un polimérico, que forma parte de los geles químicos debido a la unión del agente emulsificante que generalmente consiste en el Carbopol y sometido a un agente neutralizador como las etanolaminas, que provocan un aumento en el pH y forman el gel, debe mencionarse que suelen llamarse microgeles debido a que tienen una baja concentración y menos del 1% son partículas de microgel.⁴⁴

Agente emulsificante: Para lograr la emulsión deseada, en este caso el gel sanitizante, se escoge el Carbopol 940, este es un polvo blanco, con fórmula molecular $(C_3H_4O_2)_n$, caracterizado químicamente como un polímero acrílico reticulado, y con un olor ligeramente ácido, se utiliza para actuar como espesante mediante una neutralización con una base, aumentando la viscosidad y facilitando la formación del gel o la emulsión requerida.

Usualmente se utiliza en productos cosméticos o farmacéuticos para espesar la fase acuosa, sin embargo, aunque es soluble en agua su solubilidad es lenta.

Las emulsiones fabricadas a partir de Carbopol son utilizadas vía tópica, lo que lo hace el agente perfecto para la producción de un gel sanitizante antibacterial, sin mencionar la influencia del pH en la emulsión.

Este componente se escoge debido a sus propiedades emulsificantes y su baja toxicidad en el contacto con la piel, teniendo un DL50 >3000 mg/kg evaluado en piel de conejo, esta información puede verificarse en la ficha de seguridad...Véase anexo h...

Trietanolamina (TEA): La trietanolamina cuya fórmula molecular es $C_6H_{15}NO_3$, es un líquido viscoso alcalino, incoloro y prácticamente inodoro, soluble en agua y etanol, esta información puede verificarse en la ficha de seguridad ...Véase anexo h... usualmente se emplea en la producción de detergentes, geles cosméticos, suavizantes y demás productos de limpieza, generalmente se utiliza para balancear el pH de la emulsión y obtener un pH apropiado según el tipo de producto, en la mayoría de los casos se pretende obtener un pH neutro.

Es empleada en productos para sustituir al amoníaco, debido a que cuentan con las mismas propiedades, sin embargo, la trietanolamina no tiene tantas restricciones ni limitantes en su uso, por esta razón se incluye en la mayoría de formulaciones de

⁴⁴ BROCKEL, Ulrich. MEIER, Willi. WAGNER, Gerhard. Product design and engineering, Formulation of gels and pastes. 2013. p, 86.

gel sanitizante al igual que el Carbopol, debido a que su interacción produce una emulsión ideal para este tipo de productos sin ser nociva para la salud.

Alcohol etílico: Además de ser un componente activo en la mayoría de los productos de higiene y limpieza, se utiliza como antiséptico en productos como geles sanitizantes, sin embargo, es de fácil acceso y bajo costo siendo consumido vía gastrointestinal, tópica, olfativa e indirectamente en otros productos.

En la mayoría de productos antibacterianos se utiliza alcohol al 70% por ser el que presenta la mayor efectividad contra microorganismos patógenos, sin embargo, en algunos productos cosméticos se propone usar alcohol al 96% como en este caso, debido a que el efecto antibacteriano será concedido por el aceite esencial y no por el alcohol, también se debe tener en cuenta la proporción que se utilizará de agua-etanol.

Agente humectante. Glicerina: La glicerina con fórmula molecular $C_3H_8O_3$ es líquido claro y viscoso, incoloro e inodoro, soluble en agua, fácilmente biodegradable, que brinda sus cualidades humectantes en productos cosméticos, siendo emoliente y brindando una sensación deseada por los usuarios siendo un componente infalible en este tipo de industrias, además de ser emoliente y humectante, también actúa como disolvente siendo un agente que permite una disolución más fácil que el agua y el aceite, por lo cual se emplea en este campo, también se puede encontrar en recetas culinarias por su baja toxicidad con un DL50: 12600 mg/kg en ratas, por vía oral...Véase anexo h...

3.2 PARTE EXPERIMENTAL

Se procede a realizar las pre formulaciones del gel antibacterial para escoger una y así obtener la fórmula base para el producto al cual se le realizaron pruebas de efectividad *in vivo* e *in vitro* y pruebas organolépticas para comprobar su estabilidad.

A continuación, se encuentran los materiales de laboratorio requeridos en la fabricación del gel y las pruebas de efectividad posteriores a la realización del producto, también se pueden encontrar las cepas bacterianas sobre las cuales se hizo la prueba de difusión por discos y los equipos de laboratorio necesarios con los respectivos reactivos utilizados.

3.2.1 Material de laboratorio

- Matraz Erlenmeyer
- Tubos de ensayo
- Micropipetas
- Frascos de vidrio Ambar
- Beakers
- Asas

- Espátula
- Mezclador
- Gradillas
- Cajas de Petri
- Colador de malla fina
- Probeta
- Papel Kraft
- Hisopos (Aplicadores)
- Envases plásticos de 50 mL
- Jeringas
- Mechero de Bunsen

3.2.2 Equipos

- Incubadora E&Q
- pH-metro FIELDSCOUT
- Plancha magnética NAHITA
- Cabina de flujo laminar STREAMLINE

3.2.3 Reactivos

- Alcohol etílico al 96% y al 70% Ciacomeq
- Agua desionizada
- Agar Mueller Hinton (AMH) Merck
- Agar nutritivo Scharlau
- Dimetilsulfóxido (DMSO) Merck
- Cloruro de sodio
- Carbopol 940 Lega Químicos
- Trietanolamina (TEA) Lega Químicos
- Glicerina
- Cloranfenicol

3.2.4 Cepas bacterianas

- *Klebsiella pneumoniae* ATCC 300053
- *Escherichia coli** ATCC 25922
- *Staphylococcus aureus** ATCC 25923
- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 1228

3.3 ESTANDARIZACIÓN DEL PRODUCTO

Según la búsqueda realizada se puede establecer que las materias primas más usadas para la producción de gel sanitizante son el Carbopol, agua, Etanol, Trietanolamina y la Glicerina.^{45, 46}

Se realizaron 5 pre-formulaciones ...Véase tabla 23... partiendo de los compuestos elegidos anteriormente, Carbopol, Agua, Etanol, Trietanolamina y glicerina, para posteriormente tomar la concentración de aceite esencial como única variable y así poder determinar la mejor formulación para el producto final. Se tomaron como constantes la cantidad de Carbopol y Trietanolamina por ser responsables de la emulsión final y seguir protocolos de productos realizados anteriormente con resultados satisfactorios, en especificaciones técnicas del Carbopol se puede encontrar que para lograr un gel adecuado se debe incorporar una cantidad alrededor del 0,5% de Carbopol a la formulación, se varía la cantidad de agua, etanol y se evalúa si incluir en la formulación glicerina es conveniente o no para el producto final.

Tabla 23. Pre formulaciones del gel antibacterial para determinar la fórmula base

N°	Carbopol [g]	Agua [mL]	Etanol al 96% [mL]	Trietanolamina [mL]	Glicerina [mL]
1	0.5	38	62	1	4
2	0.5	50	50	1	1
3	0.5	90	10	1	0
4	0.5	70	30	1	1
5	0.5	90	10	1	1

⁴⁵ SOTO MONTOYA, Maria Ysabel. (2015). Determinación del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (Asteraceae). Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. p, 47.

⁴⁶ BROCKEL, Ulrich; MEIER, Willi & WAGNER, Gerhard. Product design and engineering, Formulation of gels and pastes. Germany. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Boschstr.12, 69469 Weinheim. 2013.

Para la preparación de las pre formulaciones de gel antibacterial se realizó el siguiente procedimiento:

1. Se colocó en un Beaker la cantidad de agua desionizada elegida y se mezcló con el alcohol etílico, se realizó la mezcla sobre una plancha magnética mediante el mezclador magnético.
2. Sobre el Beaker se colocó un colador de malla fina y se pesó por separado el Carbopol en una balanza de 3 dígitos, para agregarlo suavemente a la mezcla.
3. Se agitó por 20 minutos para lograr la consistencia deseada y homogenizar todos los grumos presentes.
4. Se agregó Trietanolamina (TEA) lentamente con agitación constante.
5. Posteriormente se agregó la glicerina para dar suavidad a las manos luego de la aplicación del producto.
6. Se mezcló por 5 minutos adicionales antes de envasar y realizar las pruebas para obtener la mejor pre formulación.

Las pre- formulaciones fueron descartadas o seleccionadas según un panel de ensayo compuesto como se muestra en la tabla 24, en el que se midió textura, color y olor concluyendo lo siguiente de cada pre-formulación:

Tabla 24. Panel para el análisis de la pre-formulación.

Persona 1	David Gómez	Estudiante
Persona 2	Jessica Dueñas	Estudiante

Pre formulación N°1:

Tabla 25. Composición másica de la pre formulación N°1.

P1	Composición (% másico)
Alcohol	50,84020036
Trietanolamina	5,19066085
Carbopol	0,504928098
Aceite	0
Glicerina	5,08967523
Agua	38,37453547
Total	100

Pre formulación N°1

Foto 9. Pre formulación N°1

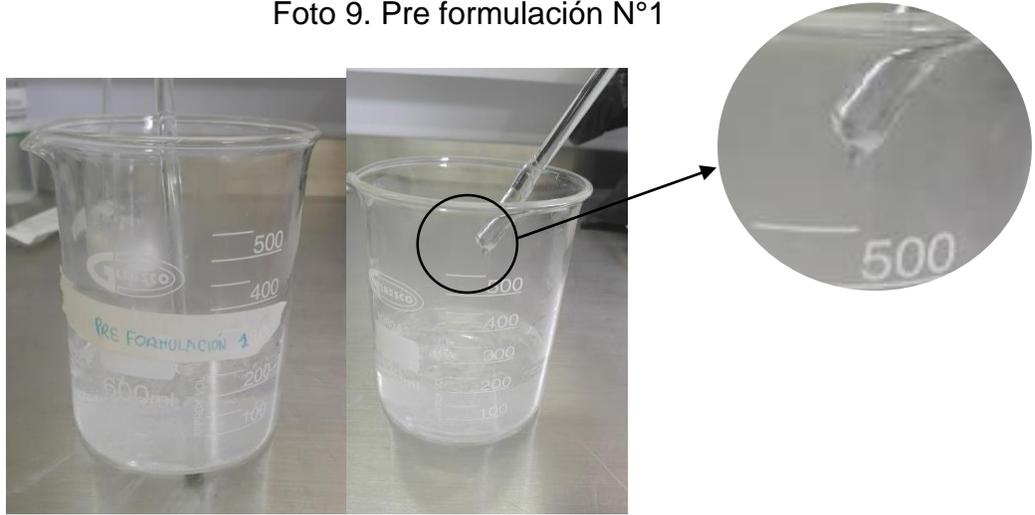


Tabla 26. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°1.

Persona	Textura	Color	Olor
1	Poca consistencia, casi líquido, no se desliza en la mano.	Transparente	Olor fuerte a alcohol
2	No tiene textura de gel antibacterial debido a que es líquido y no se puede esparcir.	Transparente	Desagradable, olor fuerte a alcohol.

Después del análisis organoléptico encontrado en la tabla 26, se concluye que la pre formulación N°1 no presentó la consistencia adecuada debido a la proporción entre el agua y el etanol usada, en cuanto al olor se debe mencionar que es un olor fuerte a alcohol, que hace que sea desagradable, estos se debe a la cantidad de alcohol utilizada y en caso de escoger esta como la fórmula base se debería adicionar una esencia adicional o mayor cantidad de aceite para lograr enmascarar este olor, se puede observar una gota del gel antibacterial con consistencia líquida en la foto 9, por las razones dadas anteriormente se concluye que este no sería un producto atractivo para los usuarios y es descartado.

Pre formulación N°2

Tabla 27. Composición másica de la pre formulación N°2.

P2	Composición (% másico)
Alcohol	42,1862012
Trietanolamina	5,34081463
Carbopol	0,5195345
Aceite	0
Glicerina	0
Agua	51,9534497
Total	100

Foto 10. Pre formulación N°2.

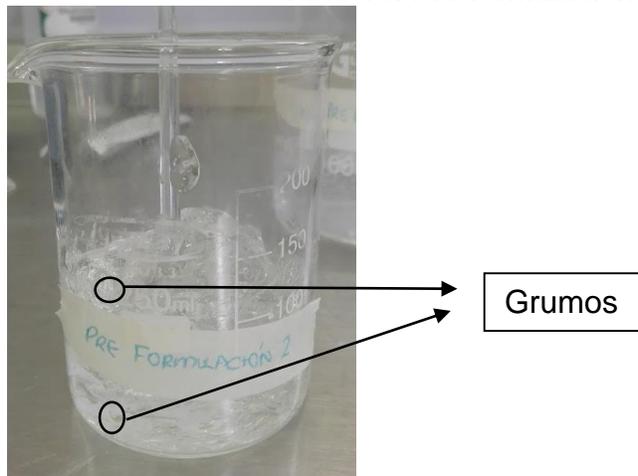


Tabla 28. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°2.

Persona	Textura	Color	Olor
1	Grumosa y pegajosa.	Transparente opaco	Olor fuerte a alcohol
2	No se desliza en la superficie de las manos, y su textura no es homogénea.	Turbio	Desagradable debido al olor fuerte a alcohol.

Después del análisis organoléptico encontrado en la tabla 28, se concluye que la pre formulación N°2 presentó una consistencia no adecuada debido a los grumos, y su baja uniformidad en comparación con las otras pre formulaciones como se puede observar en la foto 10, su aspecto no fue atractivo debido a su apariencia

turbia y poco homogénea, sugiriendo a los posibles usuarios un producto sucio y mal elaborado, esto sin mencionar el fuerte olor a alcohol que emitía.

Pre formulación N°3

Tabla 29. Composición másica de la pre formulación N°3.

P3	Composición (% másico)
Alcohol	7,8257
Trietanolamina	4,9537
Carbopol	0,4819
Aceite	0
Glicerina	0
Agua	86,7386
Total	99,9999

Foto 11. Pre formulación N°3

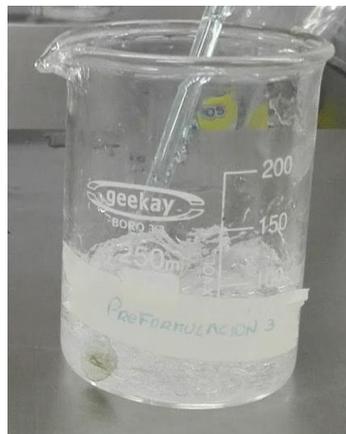


Tabla 30. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°3.

Persona	Textura	Color	Olor
1	Uniforme y homogénea	Transparente	Leve olor a alcohol
2	Se desliza fácilmente en las manos, deja una sensación pegajosa al inicio.	Transparente	Leve olor a alcohol

Después del análisis organoléptico encontrado en la tabla 30, se concluye que la pre formulación N°3 presentó una consistencia uniforme, homogénea y agradable al tacto, sin embargo, al principio deja una sensación pegajosa, por la proporción agua-etanol el producto no tiene un olor fuerte a alcohol como las pre formulaciones 1,2 y 4, el color es transparente y agradable a la vista.

Pre formulación N°4

Tabla 31. Composición másica de la pre formulación N°4.

P4	Composición (% másico)
Alcohol	24,0568833
Trietanolamina	5,07604187
Carbopol	0,49377839
Aceite	0
Glicerina	1,24432155
Agua	69,1289749
Total	100

Foto 12. Pre formulación N°4

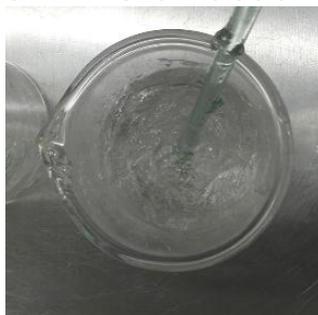


Tabla 32. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°4.

Persona	Textura	Color	Olor
1	Grumosa y poco uniforme	Transparente	Olor fuerte a alcohol
2	Sin consistencia, baja uniformidad	Transparente	Olor fuerte a alcohol

Después del análisis organoléptico encontrado en la tabla 32, se concluye que la pre formulación N°4 presento poca consistencia y uniformidad, esto se observó

debido a la textura desagradable al tacto y al olfato, por lo tanto, se descarta esta pre formulación.

Pre formulación N°5

Tabla 33. Composición másica de la pre formulación N°5.

P5	Composición (% másico)
Alcohol	7,7318606
Trietanolamina	4,89430585
Carbopol	0,47609979
Aceite	0
Glicerina	1,19977147
Agua	85,6979623
Total	100

Foto 13. Pre formulación N°5



Tabla 34. Panel de prueba de propiedades organolépticas Pre formulación N°5.

Persona	Textura	Color	Olor
1	Agradable, posteriormente deja las manos suaves.	Transparente	Leve a alcohol
2	Uniforme y agradable	Transparente	Leve a alcohol

Después del análisis organoléptico encontrado en la tabla 34, se concluye que la pre formulación N°5 presentó una consistencia uniforme, homogénea y agradable al tacto, disminuyendo la sensación pegajosa con respecto a la pre formulación N°3 y agregando suavidad a las manos por acción de la glicerina adicionada. El olor del

producto no es fuerte por lo tanto no es desagradable y con la adición del aceite esencial puede ser un producto atractivo comercialmente

Finalmente, en la foto 14 se pueden observar las 5 pre formulaciones realizadas en el laboratorio, que han sido descritas individualmente y de las cuales se procedió a elegir la fórmula base.

Foto 14. Pre formulaciones



3.3.1 Fórmula base. Para la formula base se utilizó la pre formulación N°5 debido a que ha presentado las mejores propiedades organolépticas, se estableció esta pre formulación como fórmula base de tal manera que la única variable que se evaluará en la caracterización del producto será la concentración de extracto que se debe incluir en el producto final, según la tabla 35, se puede observar la cantidad que se agrega de cada una de las materias primas ...Véase anexo D... se encuentran las composiciones másicas de cada uno de los componentes en las formulaciones evaluadas.

Tabla 35. Formulación de los tratamientos a evaluar.

Tratamiento	Agua desionizada (mL)	Etanol al 96% (mL)	Carbopo 1940 (g)	Trietanolamina (mL)	Glicerina (mL)	Aceite esencial (mL)
1. 16 $\mu\text{g/mL}$	225	25	1.25	2.5	2.5	0.05
2. 32 $\mu\text{g/mL}$	225	25	1.25	2.5	2.5	2.5
3. 0 $\mu\text{g/mL}$	225	25	1.25	2.5	2.5	0
4. Blanco comercial	No reporta	No reporta	No reporta	No reporta	No reporta	No reporta
5. 32 $\mu\text{g/mL}$ Recién hecho	225	25	1.25	2.5	2.5	2.5

Como se mencionó anteriormente la pre formulación ha permitido escoger la cantidad de cada ingrediente para la formulación, sin embargo el aceite esencial se varió en un rango de 0.025% hasta 1%, esto se toma teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la actividad antibacteriana obtenida con la especie vegetal Poleo (*Lippia turbinata*) en aceite esencial en la prueba de pozos, donde se obtiene la concentración mínima inhibitoria y se establece este rango para evaluar cual podría generar mejores resultados, por otra parte se establece un tratamiento con 0% de aceite esencial, que en este caso será el N°3, para comprobar que el alcohol incluido en la formulación no tiene un efecto inhibitorio significativo y por lo tanto no es otra variable de estudio.

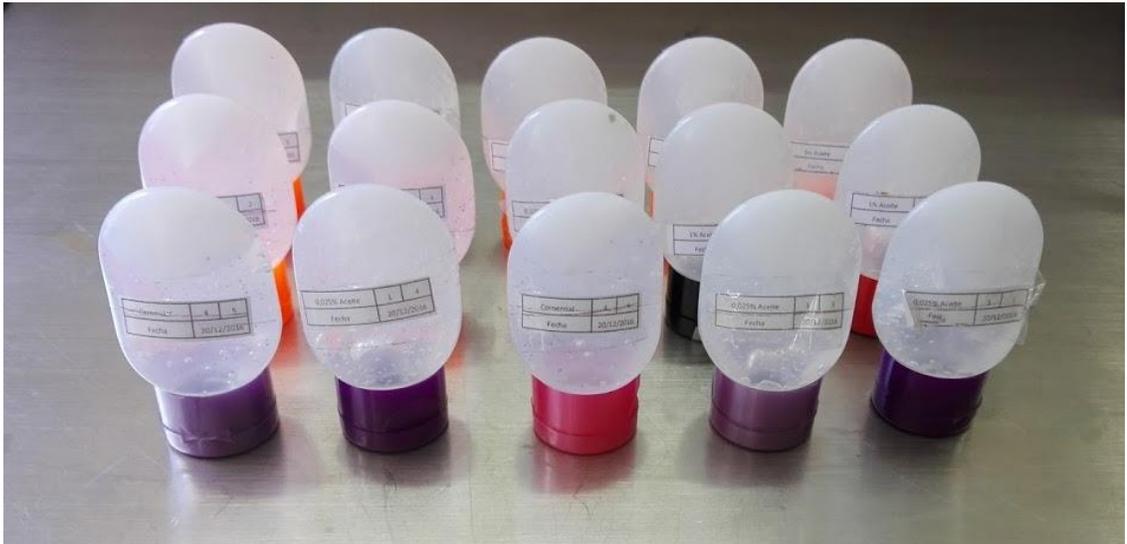
Para realizar el gel antibacterial en cada uno de los tratamientos se realizó el siguiente procedimiento teniendo en cuenta el procedimiento realizado con las pre formulaciones, pero incluyendo un tratamiento sin aceite esencial y el blanco comercial.

1. Se colocó en un Beaker la cantidad de agua desionizada 225 mL y se mezcló con 25 mL de alcohol etílico, se realizó la mezcla sobre una plancha magnética mediante el mezclador magnético.
2. Sobre el Beaker se colocó un colador de malla fina y se pesó por separado 1,25 g de Carbopol en una balanza de 3 dígitos, para agregarlo suavemente a la mezcla.
3. Se agita por 20 minutos para lograr una consistencia deseada y homogenizar todos los grumos presentes.
4. Se agrega la Trietanolamina (TEA) lentamente con agitación constante.
5. Posteriormente se agrega la glicerina para dar suavidad a las manos luego de la aplicación del producto y finalmente el aceite esencial que cumplirá la función de antibacteriano y olor del producto final.
6. Se mezcla por 5 minutos adicionales antes de envasar y realizar las pruebas de efectividad del producto.
7. Se envasan en envases plásticos de 50 mL con tapa hermética.

3.4 CARACTERIZACIÓN DEL PRODUCTO

Tomando la formula base se realizan los 3 tratamientos a evaluar y se procede a empacar el cuarto tratamiento que es el blanco comercial con la misma cantidad y en envases iguales, tal y como se puede observar en la foto 15.

Foto 15. Tratamientos a evaluar.



Se realizan 5 réplicas por cada tratamiento, cada una de 50 ml, con los cuales se realizó las pruebas de efectividad *In vivo* e *In vitro* y las pruebas organolépticas y de estabilidad establecidas.

3.4.1 Prueba de efectividad. Se realizan pruebas de efectividad *in vivo* e *in vitro* para determinar la efectividad del producto, a continuación, se mostrará la metodología llevada a cabo para las pruebas de efectividad en las figuras 5 y 6 y posteriormente los resultados obtenidos en cada prueba para dar el análisis correspondiente sobre el producto final obtenido.

Según la Farmacopea norteamericana, existen dos métodos para la valoración de antibióticos el primero es la difusión en gel y el segundo es el método turbidimétrico, para la prueba de este gel antibacterial se utilizará el método de difusión en gel.⁴⁷

⁴⁷ PEDRAZA, Paula. CASTELLANOS, Johanna. Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos *in vitro*. (2009). Bogotá, Colombia. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de microbiología y bacteriología.

Figura 5. Diagrama prueba de efectividad *in vivo*.

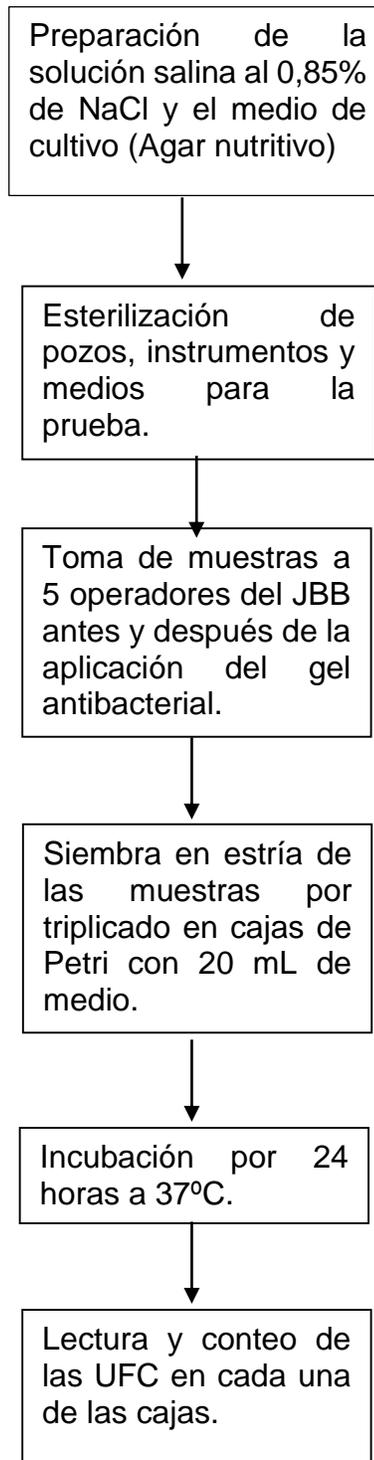
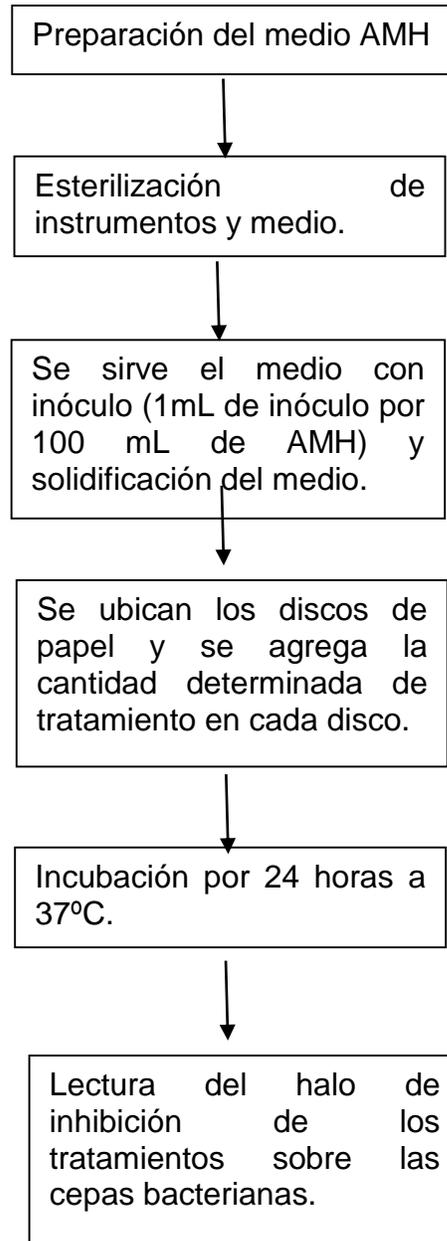


Figura 6. Diagrama de la prueba de efectividad *in vitro*.



3.4.1.1 Pruebas *In vivo*. Para las pruebas *in vivo* se lleva a cabo la prueba de manipuladores con 5 empleados del JBB y condiciones establecidas para el proceso que fueron la cantidad de gel antibacterial que usaría cada persona en la prueba, la mano en la que se haría la prueba, los materiales a utilizar, la forma estándar de realizar el frotis y la siembra técnica. Dichas variables se explicarán a continuación. Las personas se eligieron aleatoriamente cuyas manos no se observaron visiblemente sucias y que no contaran con un procedimiento de limpieza previo⁴⁸.

La cantidad de gel antibacterial que usaría cada persona se estableció en 0.2 ml debido a que se realizará en una sola mano y se requiere una cantidad adecuada, se realizaron varios ensayos para determinar una cantidad suficiente y esta fue la que se escogió, la cual fue medida con una jeringa estéril, se determinó que se haría la prueba en la mano predominante del usuario de tal manera que se tomen la mayor cantidad de bacterias debido al uso predominante de la misma, el frotis se realizó en cada persona desde la punta del dedo pulgar hacia la muñeca, nuevamente hacia la punta del dedo índice hacia la muñeca y así sucesivamente, al terminar en la esquina inferior de la mano se realizó un movimiento entre los dedos de la mano y sobre la superficie de la palma para abarcar la mayor cantidad de espacio disponible. Al final de cada dedo se debe remojar el hisopo en la solución salina y se guarda esta solución con el aplicador para la siembra.

Para empezar a realizar las pruebas fue necesario realizar el medio de cultivo que fue Agar nutritivo preparado según especificaciones de la casa matriz, en el momento en que llega al punto de ebullición se retira de la plancha y se introduce en la auto clave junto con las cajas de Petri, asas, tubos con 15 mL de solución salina al 0,85%, gorros y guantes.

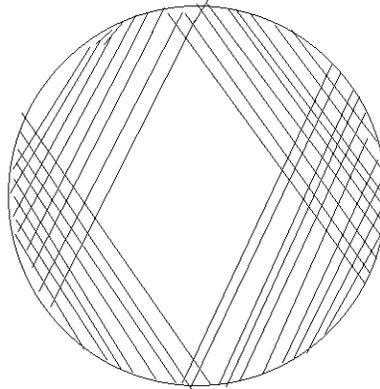
Cuando se tienen listos todos los materiales, medio de cultivo y solución salina, se procede a realizar la prueba de manipuladores.

Se toman los 10 tubos de solución salina, una jeringa con 4 mL de gel antibacterial, los 10 hisopos y 5 empleados diferentes para realizar en primer lugar el frotis en la mano predominante, luego del frotis se agregan 0,2 mL de gel antibacterial a cada empleado y deben frotarse el gel únicamente con la mano predominante para que no influya ninguna otra variable sobre la prueba, se debe secar o evaporar por completo y posteriormente se vuelve a realizar el frotis.

En la cabina de microbiología se prepararon las cajas de Petri por tratamiento con el medio de cultivo establecido y esterilizado anteriormente, se toman las 10 muestras y se realizan 3 réplicas por muestra. Se realizó una siembra técnica por estría en 4 tal y como se muestra en la ilustración N^o1.

⁴⁸ ALVARADO, Dayanna. GARCÍA, Jorge y ARIAS, María, Evaluación de la efectividad del alcohol-gel en la desinfección de manos y su estabilidad a través del tiempo.

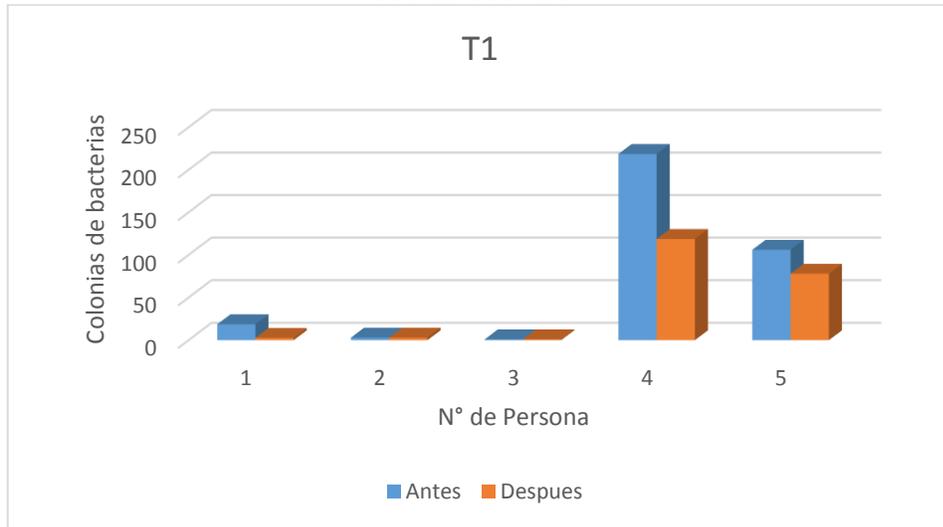
Ilustración 1. Siembra en estría para prueba de manipuladores.



Debido a que se tomaron las muestras de personas aleatoriamente para cada tratamiento, se obtiene una cantidad diferente de colonias antes y después de aplicar el gel, sin embargo, para disminuir el error se realizó la toma de muestras por persona antes y después del tratamiento.

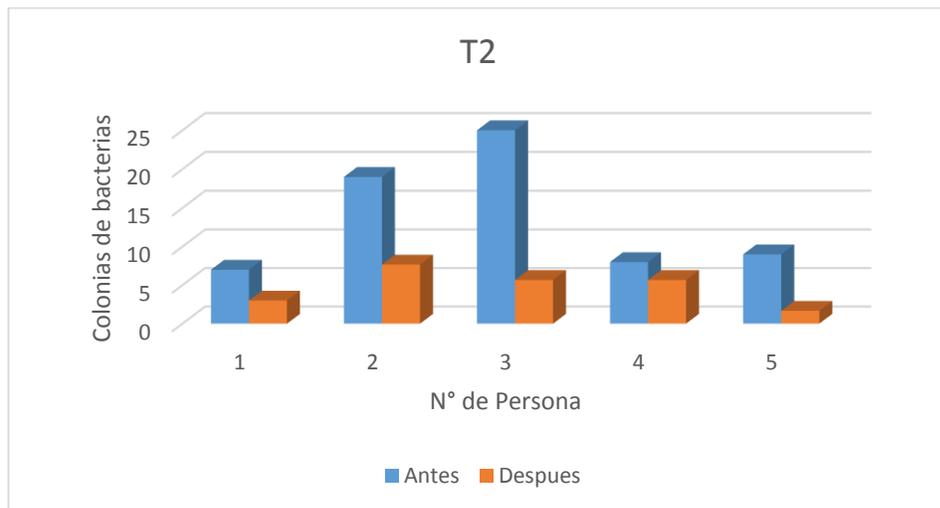
Para el tratamiento 1 se obtienen los resultados representados en la gráfica 8 según las pruebas de efectividad realizadas donde se analiza el número de colonias que crecieron antes y después del uso del tratamiento, se puede observar que las personas 4 y 5 tienen una cantidad superior de bacterias antes del tratamiento a diferencia de las personas 1, 2 y 3, esto puede deberse al oficio al que se dedican, se puede concluir que este resultado se ve influenciado por la actividad realizada dado que las personas 4 y 5 permanecen en oficina y en contacto constante con el computador y sobre todo con el teclado, el cual posee una cantidad considerable de bacterias asociadas a el área de contacto y el resguardo de varias bacterias en esta zona, cabe resaltar que no se hará la identificación de estas bacterias pero se puede observar y analizar su presencia en estas superficies antes y después del gel antibacterial.

Gráfica 8. Número de colonias antes y después del tratamiento 1 con 0.025% de aceite esencial.



Para el segundo tratamiento se obtuvo una disminución más notoria de acuerdo a la gráfica 9, en este caso las muestras obtenidas fueron similares, contando entre 5-20 UFC antes del tratamiento y disminuyendo a un rango de 1-6 UFC, por lo tanto, la efectividad se puede observar fácilmente.

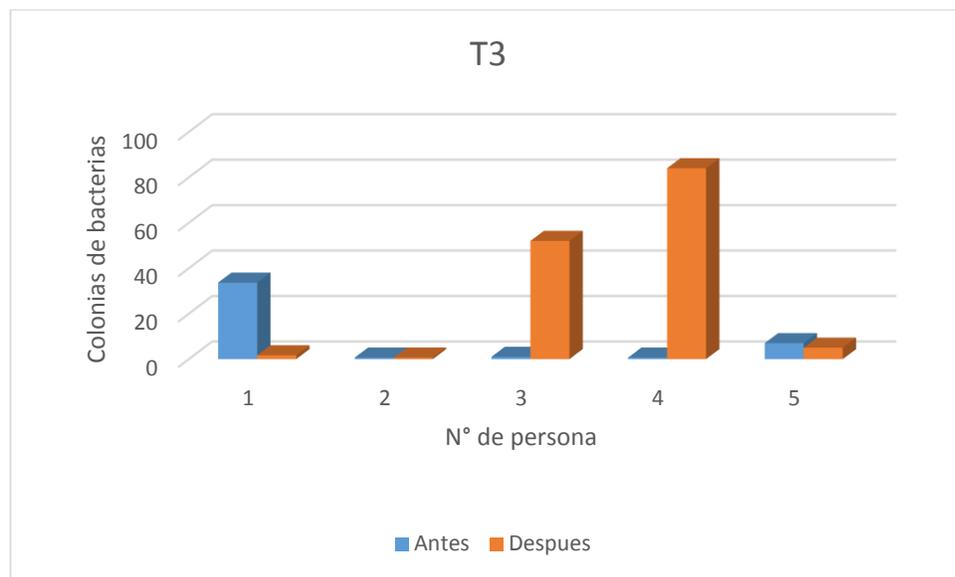
Gráfica 9. Número de colonias antes y después del tratamiento 2 con 1% de aceite esencial para una concentración de 32 µg/mL.



El tercer tratamiento no tenía aceite esencial en su fórmula y se utilizó para evaluar la efectividad antibacteriana del alcohol y los demás compuestos y de esta manera comprobar que la actividad antibacteriana del producto es concedida por el aceite esencial, en algunas personas se puede observar un incremento en las bacterias

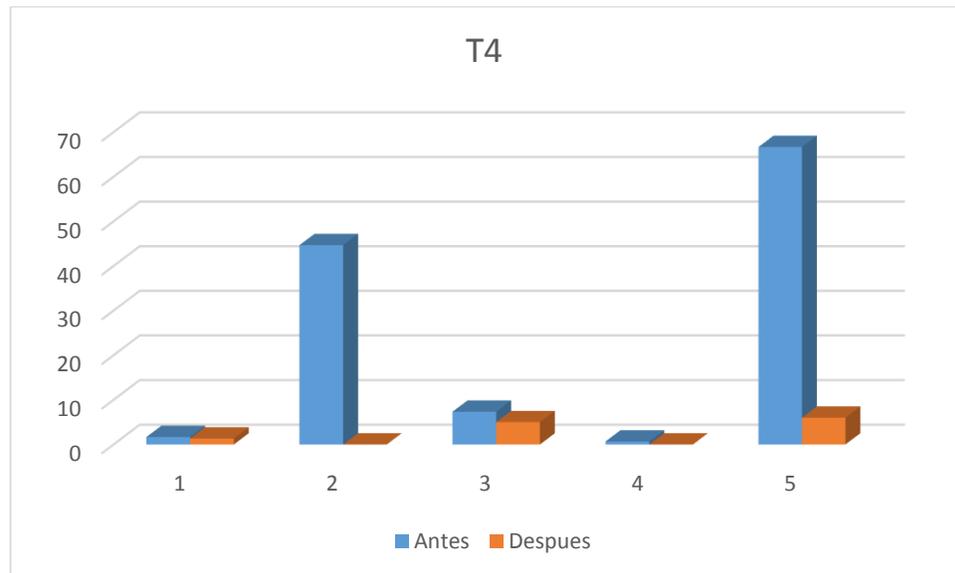
después de aplicar el producto, esto se debe a que se presentó un fenómeno en la prueba y un posible error, en las personas 3 y 4 al realizar el frotis anterior al gel se puede tomar una cantidad de bacterias, sin embargo posterior a aplicar el gel la mano desprendió partículas de suciedad que fueron tomadas para el segundo frotis, por esta razón en las muestra tomada después del tratamiento se nota un incremento en la cantidad de bacterias que las personas aún tenían en la mano y que no fueron eliminadas con el gel antibacterial.

Gráfica 10. Número de colonias antes y después del tratamiento 3 con 0% de aceite esencial.



Por último, el tratamiento número 4 que es el blanco comercial comprobó su efectividad antibacteriana, mostrando una disminución en las bacterias significativa, al igual que la prueba N°1 las personas que presentaron una cantidad mayor de bacterias son aquellas que se dedican a labores de oficina, y tienen un contacto continuo con el teclado del computador.

Gráfica 11. Número de colonias antes y después del tratamiento 4.



3.4.1.2 Pruebas *In vitro*. Para realizar las pruebas *in vitro* es necesario hacer los discos, para esto se utiliza papel filtro y una perforadora, logrando así discos del mismo tamaño, también se realiza la esterilización de todos los materiales a utilizar, en este caso cajas de Petri, puntas de micropipetas, guantes, gorros, tapabocas, beakers, medio de cultivo (AMH), cuando se tiene todo el material esterilizado se procede a realizar la prueba.

Se sirve 20 mL de medio de cultivo con cepa bacteriana en cada caja, se realizan 3 cajas es decir 3 réplicas por cepa, se agrega 1 mL de cepa bacteriana por cada 100 mL de AMH, se dejan solidificar por 1 hora y posteriormente se ubican los discos de papel en la superficie del medio cuidadosamente con las pinzas, las pinzas no deben tener contacto con el medio para que no haya contaminación, se ubican en una posición estratégica de tal forma que sea fácil diferenciar el halo de inhibición, en esta ocasión se realizaron 2 pruebas la primera con 6 discos que incluían los 5 tratamientos, el tratamiento N°5 que corresponde a la fórmula base con 1% de aceite esencial recién hecho, el control comercial y el cloranfenicol, sin embargo en la segunda prueba se evalúan únicamente 5 tratamientos, excluyendo el antibiótico.⁴⁹

⁴⁹ SOTO MONTOYA, Maria Ysabel. Determinación del efecto antimicrobiano *in vitro* de un gel elaborado con extracto etanólico de hojas de *Senecio rhizomatus* Rusby (Asteraceae). Trabajo de grado Químico farmacéutico. Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2015.

Se agrega 0,1 mL de tratamiento a cada disco y se esperan 15 minutos antes de sellar las cajas, se incuban a 37°C por 24 horas y se leen los resultados.

Tabla 36. Resultados promedio prueba de difusión por discos para efectividad *in vitro* del producto.

Tratamientos	<i>Halos de inhibición en mm</i>			
	<i>S. aureus</i>	<i>S.epidermis</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>
Tratamiento 1 (0.025% aceite)	11.5	8	11.7	10.6
Tratamiento 2 (1% Aceite)	11.8	12.3	13.6	12.2
Tratamiento 3 (0% aceite)	10	9	8.4	8.8
Tratamiento 4 comercial	19	17.6	17.1	16.6
Tratamiento 5 (1% Aceite Recién hecho)	17	17.6	16	13
Tratamiento 6 Antibiótico	20	20	20	20

En la tabla 36 se puede observar la medida promedio de los halos de inhibición obtenidos en la prueba, según la cual el producto final no tiene una gran inhibición de *S. epidermis*, sin embargo, el tratamiento 5 hecho recientemente generó mayor inhibición a comparación del tratamiento 2 cuya concentración es la misma, pero difieren en la fecha de fabricación, siendo el 5 más nuevo que el 2, en cuanto a las demás cepas bacterianas evaluadas se presentó una buena inhibición como es el caso de *K. pneumoniae*. El tratamiento 5 y el comercial presentaron resultados similares siendo el tratamiento con 1% de aceite esencial el promisorio tanto en las pruebas *in vivo* e *in vitro*, se podría incluir en la formulación una cantidad superior de aceite esencial para mantener la efectividad del gel antibacterial en el tiempo.

Analizando los resultados obtenidos en la tabla 36 se caracteriza la resistencia y/o sensibilidad del microorganismo al antibiótico evaluado, según los parámetros de la tabla 37.

Tabla 37. Categorías de interpretación de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos.⁵⁰

	CIM ($\mu\text{g/ml}$)	Halos de inhibición (mm)
Sensible	≤ 4	≥ 20
Intermedio	8-16	15-19
Resistente	≥ 32	≤ 14

Fuente: MALBRÁN, Carlos. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. (2012)

Según la tabla 36 se obtiene que *S.aureus*, *S.epidermis*, *K. pneumoniae* presentan una sensibilidad intermedia tanto al tratamiento comercial como al tratamiento elegido y recientemente fabricado, también se puede concluir que la dosis de antibiótico para tratar las cepas bacterianas puede ser más elevada para generar mayor sensibilidad en la cepa, en cuanto a los tratamientos 1 y 2 se observa que no presentan sensibilidad y las cepas bacterianas son resistentes a las dosis de antibiótico propuestas. En cuanto al tratamiento 3 se corrobora que la fórmula base sin antibiótico no genera sensibilidad en las cepas bacterianas.

Los halos de inhibición obtenidos sobre *K. pneumoniae* alrededor de los discos impregnados con el tratamiento 4 que es el comercial, 5 que tiene la misma formulación del tratamiento 2 pero se realizó recientemente y el antibiótico, se pueden observar en la foto 16 y 17.

⁵⁰ MALBRÁN, Carlos. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución, (2012). Vol.32. Clinical and laboratory standards institute. p,3.

Foto 16. Halos de inhibición en *K. pneumoniae*.

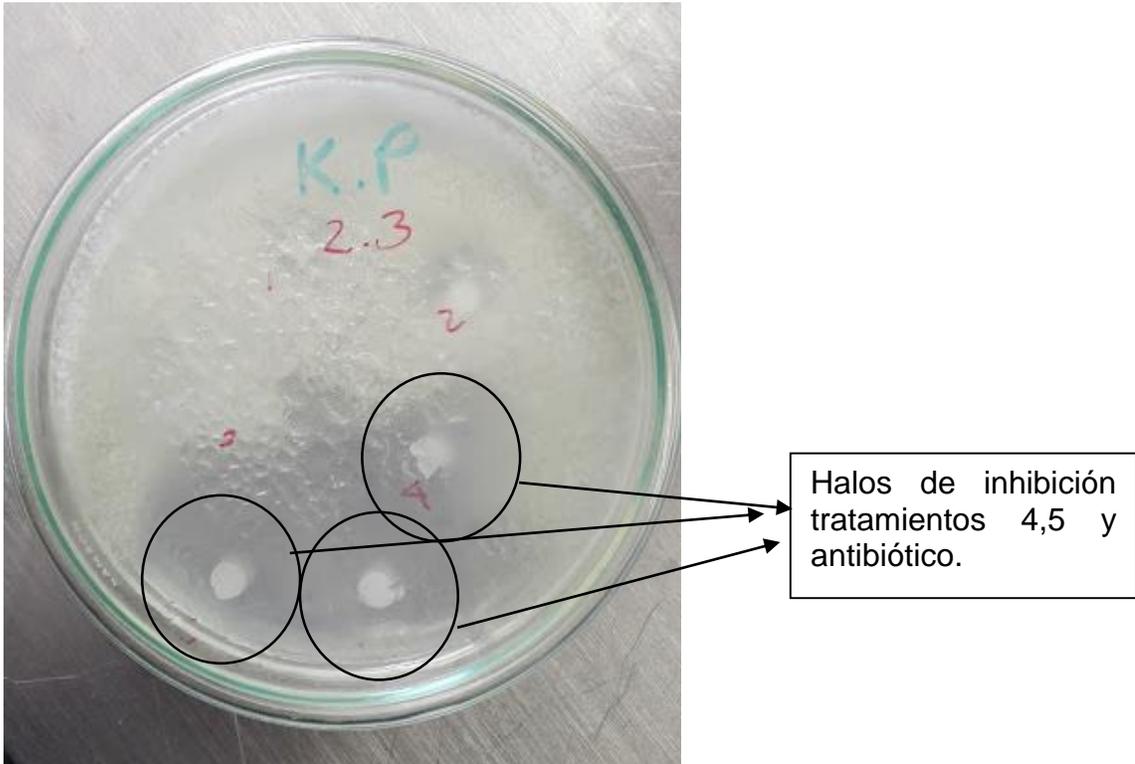
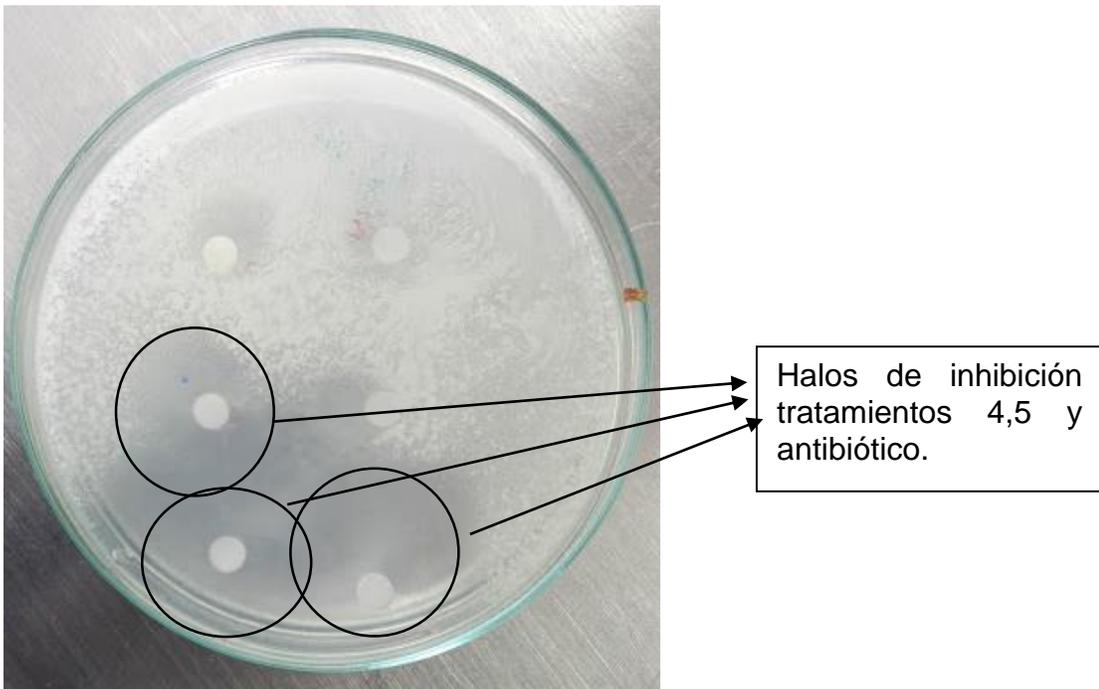


Foto 17. Halos de inhibición tratamiento 4,5 y antibiótico.



3.4.2 Pruebas organolépticas y fisicoquímicas. Según las variables establecidas anteriormente se realizaron las pruebas de olor, color, textura y apariencia, durante 6 semanas con el fin de tener un aspecto claro del producto y la posibilidad de incursionar en el mercado, como resultado se puede establecer que transcurridas las 6 semanas el producto no tuvo cambio de color ni olor aparente, la textura también permaneció igual, se evidenciaron cambios en cuanto a pH como propiedad fisicoquímica establecida para medición por 6 semanas, sin embargo no se presentó una variación significativa, por el contrario el producto fue adquiriendo un pH más bajo por lo que dejó de ser tan alcalino como al principio y tuvo una tendencia hacia la neutralidad durante las 6 semanas de estudio, lo que es bueno para este tipo de productos de higiene corporal, específicamente para las manos.

El olor del producto es agradable y notorio, aunque disminuyó la potencia con el tiempo, sin embargo, cabe resaltar que el aceite esencial abasteció al producto con su actividad antibacteriana y su olor aromático sin necesidad de agregar un componente adicional lo que disminuye costos económicos y ambientales.

En la tabla 38 se puede observar que el color siempre fue 1 definido como incoloro, ya que no hubo cambio en el color del producto durante el tiempo establecido, el olor del producto presentó cambios siendo en un principio catalogado como 5 que es el olor más agradable y 1 el olor más desagradable, en cuanto a la textura se mantuvo por encima de 4 siendo 5 la más agradable y 1 la menos agradable, y el pH tuvo un promedio entre 8 y 10.

Tabla 38. Resultados pruebas de color, olor, textura y pH por 6 semanas.

Tratamiento	Color	Olor	Textura	pH
1	1,00	4,67	4,70	9,69
2	1,00	4,43	4,40	9,75
3	1,00	1,13	3,93	8,37
4	1,00	3,00	5,00	7,50

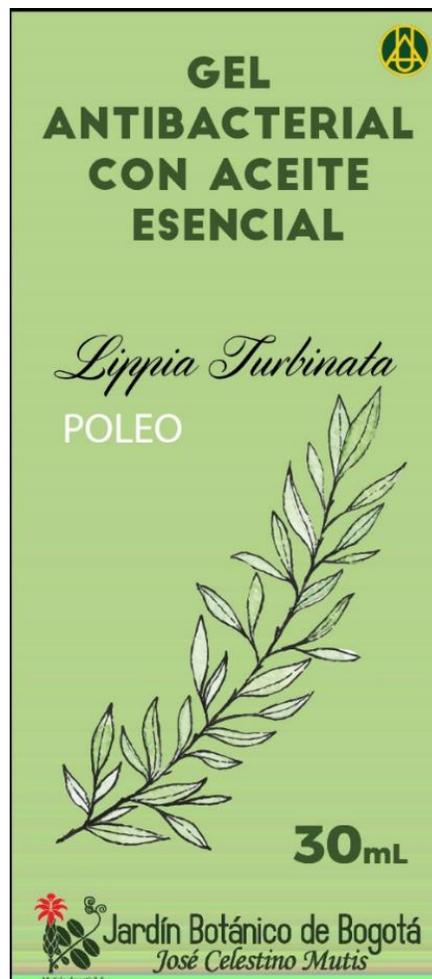
Para la selección del mejor tratamiento, y tomando en cuenta todas las pruebas de efectividad realizadas a los tratamientos evaluados, se puede elegir el tratamiento N°2 que cuenta con una concentración de aceite esencial mayor y obtuvo mejores resultados en las pruebas de efectividad antibacteriana, el tratamiento N°3 cuya concentración de aceite esencial era 0 demostró que el poder antibacteriano del gel antibacterial se debe al aceite esencial y no al porcentaje de alcohol utilizado en la formulación.

3.4.3 Etiqueta del producto final. Según la decisión 516 del 2002⁵¹ en cuanto a la armonización en materia de productos cosméticos y específicamente de higiene para manos se realizó la etiqueta del producto final, teniendo en cuenta, nombre y razón social del fabricante, ingredientes, precauciones, cantidad del producto en volumen, dirección y fecha de fabricación.

Por esta razón se propone la siguiente etiqueta para el gel antibacterial resultante con aceite esencial de Poleo (*Lippia turbinata*).

Ubicada en la parte frontal del envase del producto

Figura 7. Etiqueta ubicada en la parte frontal del envase del producto



⁵¹ INVIMA. Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos. [En línea] . [26 de diciembre de 2011]. Disponible en internet: <https://www.invima.gov.co/x-decisiones-cosmeticos/208-decision-516-pacto-andino-marzo-152002.html>

Ubicada en la parte posterior del envase del producto.

Figura 8. Etiqueta ubicada en la parte frontal del envase del producto

BENEFICIOS: Este producto es un antibacterial gracias al aceite esencial de Poleo (*Lippia Turbinata*) que actúa como agente antibacteriano frente a microorganismos sin el uso de un producto adicional o enjuague.

MODO DE USO: Aplique 1 mL de gel antibacterial sobre la superficie de la mano predominante y espárzalo con ayuda de las manos. No necesita enjuague.

PRECAUCIONES: Únicamente para uso externo, evite el contacto con los ojos.

INGREDIENTES: agua, alcohol, trietanolamina, aceite esencial, glicerina y carbopol.

Fabricado en el Jardín Botánico de Bogotá José Celestino Mutis, Colombia.
PBX:4377060
Dirección: Avenida Cll 63 No. 68-95
Fecha de lote: 21 de Diciembre 2016.

USO TÓPICO

4. MATERIAS PRIMAS Y COSTOS ASOCIADOS A MATERIAS PRIMAS DEL PROCESO

Para culminar el desarrollo del producto antibacteriano, se procede a realizar la descripción de los procesos tanto a nivel laboratorio como a escala piloto, incluyendo las cantidades de materias primas utilizadas, los balances de materia a nivel laboratorio y la propuesta para la producción piloto del producto realizado, teniendo en cuenta los costos asociados a las materias primas.

4.1 DESCRIPCION DEL PROCESO A NIVEL LABORATORIO

En el proceso de producción de este gel sanitizante en el laboratorio se utilizó una plancha magnética de agitación, un tamizador y un sistema de extracción a nivel laboratorio para obtener el aceite esencial.

4.1.1 Condiciones de operación. Al ser un proceso Batch, se carga inicialmente el material vegetal para realizar la extracción del aceite esencial, por otra parte, se realiza el proceso de producción del gel antibacterial, se describirán ambos procesos a continuación:

Para el proceso de extracción del aceite esencial se introduce inicialmente el solvente en este caso 1 litro de agua por cada 250 g de Poleo (*Lippia turbinata*), se observa que el vapor se produce a los 30 a 40 minutos de calentamiento, por lo tanto el tiempo de extracción aproximado es de 3 horas, la cantidad de aceite esencial observada no es mayor a los 2 mL de aceite esencial, por esta razón se recomienda introducir una mayor cantidad de material vegetal para así mismo obtener una cantidad de aceite esencial significativa, esto permite una separación más fácil del aceite del agua y sólo un tiempo de calentamiento del agua lo que disminuye el tiempo de extracción en un lote más grande a dos lotes individuales.

4.1.2 Variables del proceso de producción. Se realiza un análisis de las variables del proceso, definiendo la variable respuesta y las variables independientes.⁵²

Variables respuesta:

- Rendimiento del aceite esencial

Variables independientes:

- Presión y temperatura de operación

⁵² GONZALEZ, Angela. (2004), Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Manizales, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ingeniería Química.

- Tipo de operación
- Especie vegetal a trabajar
- Cantidad de material vegetal inicial

Para la producción del gel antibacterial se establece la operación como Batch, con el fin de tener un control del proceso efectivo, en cuanto a la introducción de las materias primas y el material vegetal inicial y la obtención del producto deseado, cabe resaltar que un proceso Batch es más estable y recomendable para la elaboración de productos cosméticos, farmacéuticos y producciones pequeñas⁵³ siendo el proceso más favorable para el producto elaborado.

Este proceso se realiza a presión y temperatura atmosférica para no presentar variaciones en la textura del gel antibacterial, en este caso se realizó a 20 °C y 0,74 atm.⁵⁴

4.1.3 Diagrama de bloques. El diagrama de bloques correspondiente al proceso llevado a cabo para la producción a nivel laboratorio se puede observar en la figura 9 y las corrientes de entrada y salida en la tabla 39.

⁵³ KOROVISSI, E. LINNINER, A. Batch Processes, 2006. Taylor & Francis Group. Capítulo 1, p, 3.

⁵⁴ UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS. *Características de Bogotá*. [En línea] Bogotá. Disponible en Internet: <https://www.udistrital.edu.co/universidad/colombia/bogota/caracteristicas>.

Figura 9. Diagrama. Producción de gel antibacterial con aceite esencial de Poleo (*Lippia turbinata* Griseb) nivel laboratorio.

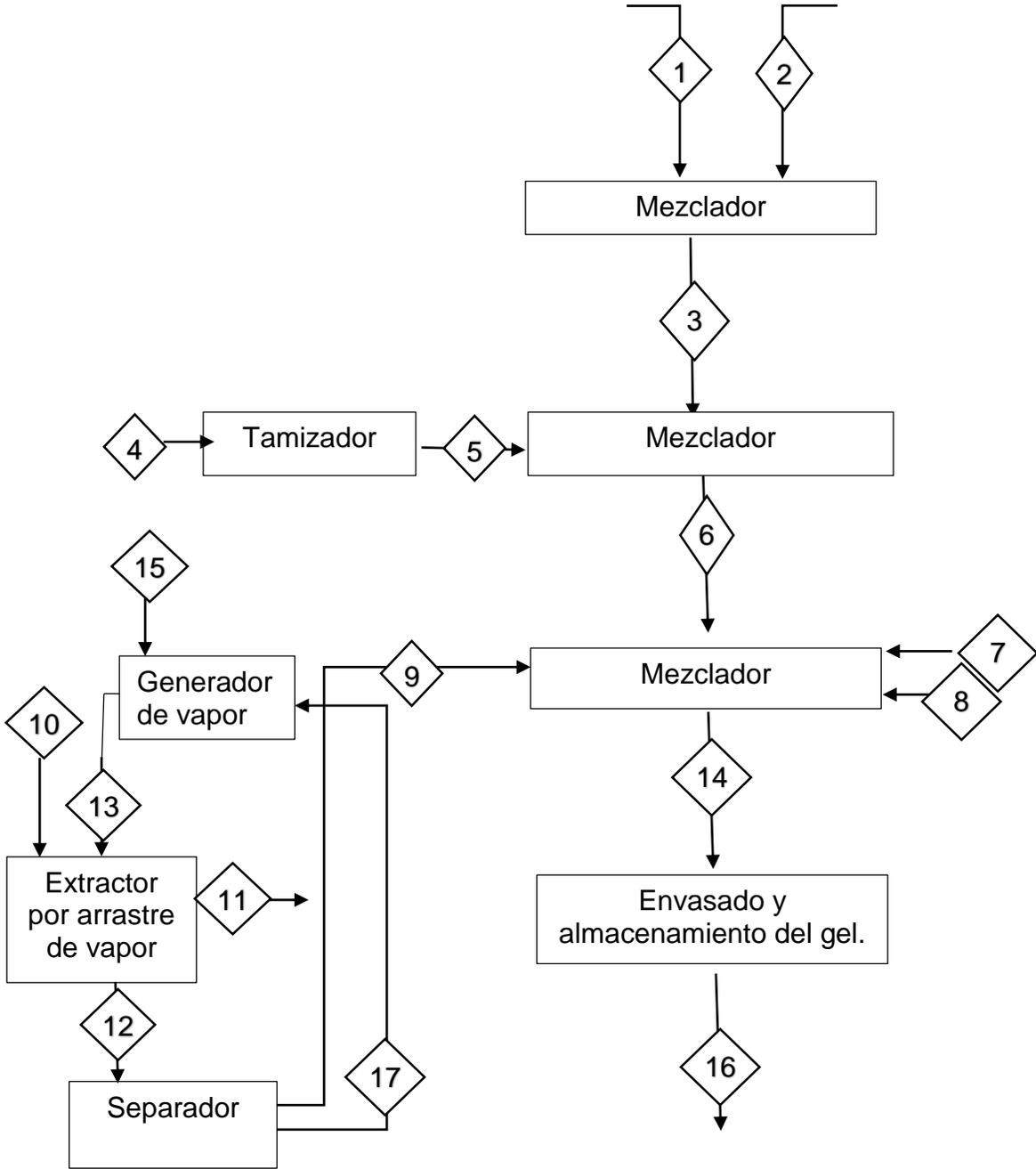


Tabla 39. Corrientes del proceso a nivel laboratorio para 1 L de gel antibacterial en masa (g).

Corriente	Componente	Cantidad [g/L]
1	Agua	900
2	Alcohol Etílico 96%	81,2
3	Agua-Etanol	981,2
4	Carbopol	5
5	Carbopol	5
6	Agua-Etanol-Carbopol	986,2
7	Trietanolamina	51,4
8	Glicerina	12,6
9	Aceite	8,85
10	Hojas	1250
11	Residuo	1241,15
12	Agua aceite	5010
13	Agua	5000
14	Gel	1059,05
15	Agua	5000
16	Gel	1059,05

4.1.4 Balance de materia. Para el proceso se realizó un balance de materia que incluye la producción de aceite esencial de poleo (*Lippia turbinata Griseb*) hasta la obtención del producto final que en este caso es el gel antibacterial. Se escribe de manera general lo que representa el balance de materia según la ley de la conservación de la masa.

$$\text{Entrada} + \text{Generación} - \text{Salida} - \text{Consumo} = \text{Acumulación} \quad (1)$$

Se realiza un balance de materia para la operación Batch que se llevó a cabo, con 250 g de hojas de Poleo (*Lippia turbinata*) previamente trituradas para realizar la extracción del aceite esencial por el método de arrastre con vapor, para empezar, se realiza el cálculo del rendimiento del proceso de extracción del aceite esencial.

$$\%Rendimiento = \frac{\text{Peso del extracto o aceite}}{\text{Peso del material inicial}} * 100 = \frac{1,77 \text{ g}}{250 \text{ g}} * 100 = 0.71\% (2)$$

De esta manera se obtiene que el rendimiento de extracción de aceite esencial de Poleo (*Lippia turbinata* Griseb) es de 0.71%, un rendimiento bajo en general, pero alto a comparación de otras plantas aromáticas, el rendimiento se encuentra dentro del rango de cantidad de aceite esencial producido que va desde 0.5 a 6% de aceite⁵⁵, cabe resaltar que la actividad presentada por esta especie vegetal hace que sea importante y promisorio frente a las demás.

Para obtener 320 mL de aceite esencial y producir un lote de 32 L de gel antibacterial se realizan los siguientes cálculos:

$$\frac{250 \text{ g Hojas de Poleo (} Lippia \text{ turbinata)}}{2 \text{ mL aceite}} * 320 \text{ mL aceite} \\ = 40 \text{ Kg Hojas de Poleo (} Lippia \text{ turbinata)}(3)$$

En el proceso de extracción se necesita de un solvente que en este caso es el agua para el método de arrastre con vapor y el tejido del material vegetal, para obtener el aceite esencial se ha procedido a realizar la extracción de las hojas frescas del Poleo (*Lippia turbinata* Griseb).

El agua en este proceso se recircula nuevamente hacia el generador de vapor para volver a la extracción de aceite del tejido vegetal.

A continuación, se presentan los balances realizados para cada uno de los componentes y el balance general del proceso.

Balance general

Para el balance general o global del proceso se tienen en cuenta únicamente las corrientes de entrada y de salida del proceso global, tal y como se encuentra en la tabla 40.

⁵⁵ STASHENKO, Elena. *Aceites esenciales*. Bucaramanga- Santander: División de publicaciones UIS. 2009. p 14.

Tabla 40. Corrientes de entrada y salidas globales del proceso.

Entrada	Salida
1,2,4,7,8,15,10	11 y 16

Por lo que el balance global queda de acuerdo a la ecuación 4.

$$M1+M2+M4+M7+M8+M10+M15=M11+M16 \quad (4)$$

Balances por componente

Carbopol

El Carbopol está presente en el proceso, sin embargo, entra únicamente por la corriente N°4, pasa por un tamizaje y entra en la corriente N°5, para finalmente salir en la corriente N°16 en el gel antibacterial.

Según la ley de la conservación de la materia y al no haber acumulación en el tamizaje se propone que:

$$M4=M5 \quad (5)$$

Para el proceso el balance para el Carbopol estaría dado de la siguiente manera:

$$M4(m_{4C}) = M16(m_{16C}) \quad (6)$$

$$M4(1) = M16(0,0047) \quad (7)$$

Trietanolamina

Al igual que el Carbopol la TEA ingresa al proceso en la corriente N°7 y sale del proceso en el gel antibacterial en la corriente N°16, se asume que no hay acumulación. Por lo tanto, el balance para la TEA está dado por:

$$M7(m_{7t}) = M16(m_{16t}) \quad (8)$$

Donde $m_{7t}=1$, por lo tanto:

$$M7(1) = M16(0,0485) \quad (9)$$

Glicerina

La glicerina ingresa al proceso en la corriente N°8 y sale del proceso en la corriente N°16 en el gel antibacterial.

$$M8(m_{8g}) = M16(m_{16g}) \quad (10)$$

$$M8(1) = M16(0,0119) \quad (11)$$

Etanol

El Alcohol etílico ingresa al proceso desde la primera mezcla junto con el agua en la corriente N°2 y sale del proceso en la corriente N°16 en el gel antibacterial. En este caso al ser alcohol etílico al 96% se tiene que la corriente N°2 está dada de la siguiente manera:

$$M2(m_{2e}) = M16(m_{16a}) \quad (12)$$

$$M2(0,96) = M16(0,0736) \quad (13)$$

Aceite esencial

El aceite esencial sale del separador e ingresa al mezclador en la corriente N°9, sale del proceso en el gel antibacterial en la corriente N°16.

$$M9(m_{9ac}) = M16(m_{16ac}) \quad (14)$$

$$M9(1) = M16(0,0084) \quad (15)$$

Agua

El agua ingresa al proceso en la corriente N°1, es el componente mayoritario del producto siendo más del 80% del producto final, sin embargo, se encuentra presente en la extracción del aceite esencial por lo tanto ingresa también en la corriente N°15 para extraer el aceite esencial del tejido vegetal. El agua en la extracción del aceite esencial no sale del proceso, por el contrario, realiza 6 recirculaciones para lograr la extracción deseada de 40 Kg de material.

$$M1(m_{1a}) = M16(m_{16a}) \quad (16)$$

$$M1(1) = M16(m_{16a}) \quad (17)$$

$$M15(m_{15a}) = M13(m_{13a}) \quad (18)$$

Muestra de material vegetal

El material vegetal se carga inicialmente al extractor para posteriormente retirar el aceite esencial, al no haber acumulación se define que:

$$(19) \text{ Masa de muestra de material vegetal en el extractor} \\ + \text{ Masa de aceite esencial} = 0$$

Masa del aceite esencial= 2mL*0,885 g/mL (20)

$$=1,770 \text{ g}$$

A continuación, se realiza el cálculo de la masa de muestra material al final de la extracción

Masa de la muestra vegetal final= Masa de la muestra vegetal inicial masa del aceite esencial

Masa de la muestra final= 250 g – 1,77 g= 248,23 g (21)

M10=M11+M9 (22)

Finalmente se obtiene la tabla del balance de materia para este proceso.

Tabla 41. Tabla balance de materia en composición másica para el proceso de producción del gel antibacterial.

Corriente	Agua	Etanol al 96%	Carbopol	Aceite	Hojas	Trietanolamina	Glicerina
1	1	0	0	0	0	0	0
2	0,04	0,96	0	0	0	0	0
3	0,904	0,096	0	0	0	0	0
4	0	0	1	0	0	0	0
5	0	0	1	0	0	0	0
6	0,916	0,079	0,005	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	1	0
8	0	0	0	0	0	0	1
9	0	0	0	1	0	0	0
10	0	0	0	0	1	0	0
11	0	0	0	0	1	0	0
12	0,9982	0	0	0,0018	0	0	0
13	1	0	0	0	0	0	0
14	0,853	0,0735	0,0047	0,0084	0	0,0485	0,0119
15	1	0	0	0	0	0	0
16	0,853	0,0735	0,0047	0,0084	0	0,0485	0,0119

Tabla 42. Tabla de balance de materia en masa de cada componente por corriente para la producción a nivel laboratorio.

Corriente	Agua (g/L)	Etanol al 96% (g/L)	Carbopol (g/L)	Aceite (g/L)	Hojas (g/L)	Trietanolamina (g/L)	Glicerina (g/L)
1	900,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	3,248	77,952	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
3	887,005	94,195	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,000	0,000	5,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,000	0,000	5,000	0,000	0,000	0,000	0,000
6	903,359	77,910	4,931	0,000	0,000	0,000	0,000
7	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	51,400	0,000
8	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	12,600
9	0,000	0,000	0,000	8,850	0,000	0,000	0,000
10	0,000	0,000	0,000	0,000	1250,000	0,000	0,000
11	0,000	0,000	0,000	0,000	1241,150	0,000	0,000
12	5000,982	0,000	0,000	9,018	0,000	0,000	0,000
13	5000,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
14	903,370	77,840	4,978	8,896	0,000	51,364	12,603
15	5000,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
16	903,370	77,840	4,978	8,896	0,000	51,364	12,603

4.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO A ESCALA PLANTA PILOTO

Para la propuesta del proceso de producción de este gel antibacterial a nivel planta piloto se requiere un mezclador con la capacidad suficiente para la cantidad de gel sanitizante antibacterial deseada, sin embargo, uno de los limitantes del proceso es la extracción del aceite esencial, debido al tamaño de extractores encontrados en la

industria, para la propuesta del proceso a nivel planta piloto se utilizó el extractor más pequeño encontrado el cual tiene una capacidad de 40 kg, de acuerdo a esta cantidad de material vegetal y teniendo en cuenta el rendimiento del aceite esencial se obtiene la cantidad de aceite resultante y los cálculos de las demás materias primas para la cantidad de gel antibacterial que en este caso se hacen para una producción de 32 L.

4.2.1 Condiciones de operación a escala piloto. Al ser un proceso Batch, se carga inicialmente el material vegetal en el extractor de la planta piloto con 40 Kg de hojas frescas de Poleo (*Lippia turbinata*) y la cantidad de solvente necesario para la extracción, luego se realiza el proceso del gel antibacterial, para incorporar el aceite esencial en la tercera mezcla, este proceso se escala con el balance de materia realizado anteriormente, por esta razón la temperatura y la presión se establecen en 20°C y 0.74 atm respectivamente.

4.2.2 Variables del proceso de producción. Las variables del proceso de producción siguen permaneciendo iguales, debido a que el limitante del proceso es la cantidad de aceite esencial que se puede producir.

Variables respuesta:

- Rendimiento del aceite esencial

Variables independientes:

- Presión y temperatura de operación
- Tipo de operación
- Especie vegetal a trabajar
- Material vegetal inicial

4.2.3 Diagrama de bloques

Figura 10. Diagrama. Producción de gel antibacterial con aceite esencial de Poleo (*Lippia turbinata*) escala piloto,

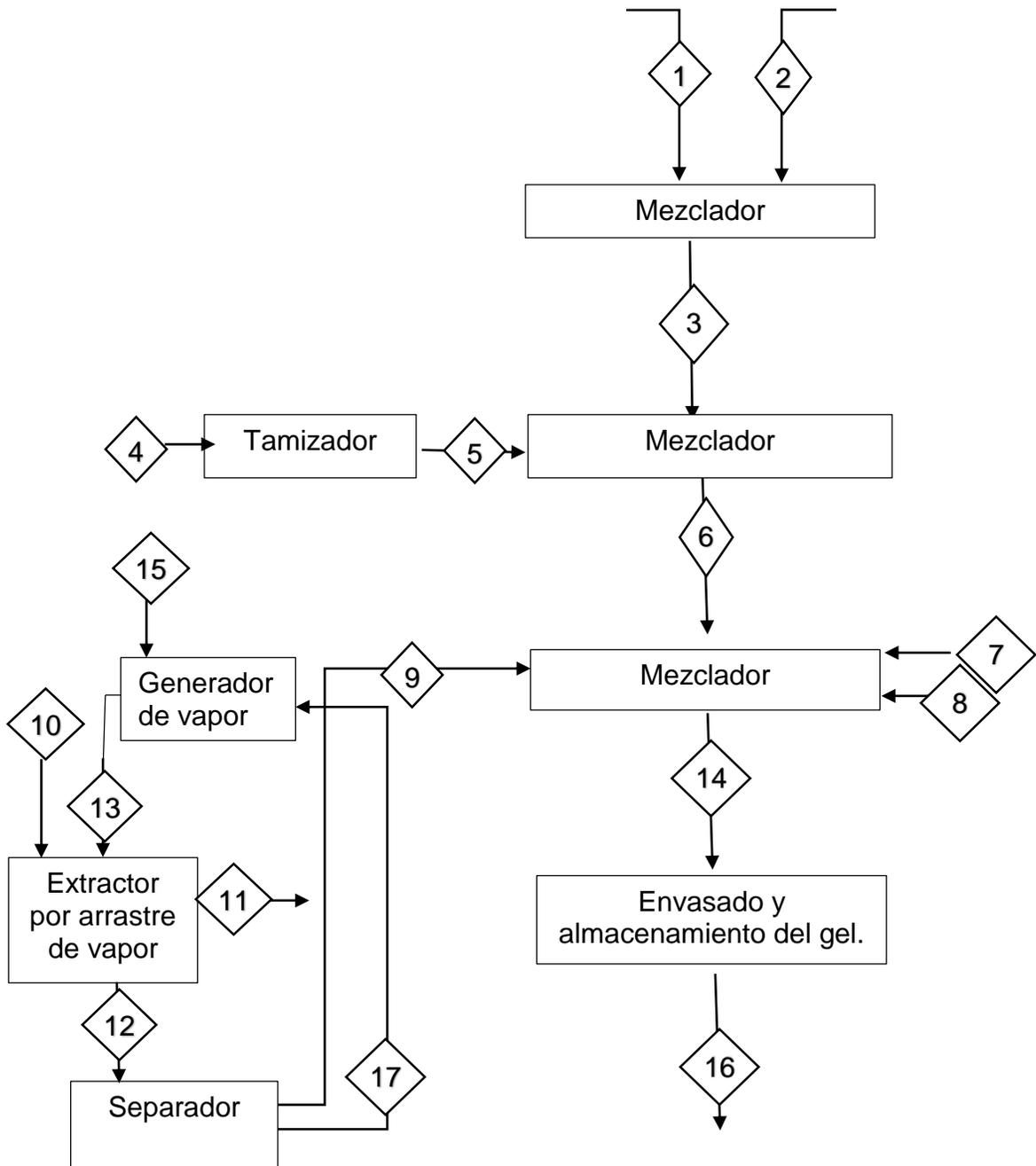


Tabla 43. Corrientes del proceso a escala piloto para 32 L de gel antibacterial, en masa (g).

Corriente	Componente	Cantidad [g]
1	Agua	28800
2	Alcohol Etílico 96%	2598,4
3	Agua-Etanol	31398,4
4	Carbopol	160
5	Carbopol	160
6	Agua-Etanol-Carbopol	31558,4
7	Trietanolamina	1644,8
8	Glicerina	403,2
9	Aceite	283,2
10	Hojas	40000
11	Residuo	39716,8
12	Agua aceite	160320
13	Agua	160000
14	Gel	33889,6
15	Agua	160000
16	Gel	33889,6

4.2.4 Balance de materia. Con la tabla 41 obtenida en el balance de materia a nivel laboratorio se procede a realizar la tabla para el proceso a escala piloto y la tabla del balance de materia se puede observar en la tabla 44.

Tabla 44. Tabla de balance de materia para el proceso de producción a escala piloto.

Corriente	Agua (g)	Etanol al 96% (g)	Carbopol (g)	Aceite (g)	Hojas (g)	Trietanolamina (g)	Glicerina (g)
1	28800,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
2	103,936	2494,464	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
3	28384,154	3014,246	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
4	0,000	0,000	160,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,000	0,000	160,000	0,000	0,000	0,000	0,000
6	28907,494	2493,114	157,792	0,000	0,000	0,000	0,000
7	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1644,800	0,000
8	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	403,200
9	0,000	0,000	0,000	283,200	0,000	0,000	0,000
10	0,000	0,000	0,000	0,000	40000,000	0,000	0,000
11	0,000	0,000	0,000	0,000	39716,800	0,000	0,000
12	159999,360	0,000	0,000	288,576	0,000	0,000	0,000
13	160000,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
14	28907,829	2494,275	159,281	284,673	0,000	1643,646	403,286
15	160000,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
16	28907,829	2494,275	159,281	284,673	0,000	1643,646	403,286

4.3 REQUERIMIENTO DE MATERIAS PRIMAS Y QUÍMICOS DEL PROCESO A ESCALA PLANTA PILOTO

4.3.1 Costos del producto a escala planta piloto. Según la cotización realizada previamente se obtienen los siguientes precios de acuerdo a las cantidades y presentaciones de los productos.

Alcohol industrial al 96% 120000 COP 5000 mL
 Trietanolamina 163000 COP 19000 mL
 Carbopol 48500 COP 1000 g
 Glicerina 95000 COP 19000 mL

Para producir 32 Litros de gel antibacterial se requieren las cantidades encontradas en la tabla 45.

Tabla 45. Cantidades de materias primas requeridas para la producción de 32 L de gel antibacterial.

Materias primas	32 L
Carbopol 940	160 g
Trietanolamina	320 mL 3200
Alcohol etílico	mL 28800
Agua	mL
Aceite esencial	320 mL
Glicerina	320 mL

Por lo tanto, el costo por materias primas para 32 L del gel antibacterial sería de:

Tabla 46. Costo de las materias primas para cumplir con el requerimiento de materia primar para la producción de 32 L.

Materias primas	Costo (COP)
Carbopol 940	7760
Trietanolamina	2745
Alcohol etílico	76800
Agua	1'440.000
Aceite esencial	1'600.000
Glicerina	1600
Total	3'128.905

4.3.1.1 Potencial económico parcial. Se calcula el potencial económico parcial del proceso teniendo en cuenta los costos asociados a las materias primas requeridas para 32 L, la cantidad de unidades de gel antibacterial de 30 mL que se obtienen en el proceso y el costo por unidad sugerido.

P.V.S.P = 4000 COP

Gel antibacterial obtenido =32 L

Volumen de las unidades para venta= 30 mL

Cantidad de unidades para venta= 1066 unidades

Potencial económico parcial= 1'135.094 COP/32 L

Potencial económico parcial por litro = 35472 COP/L

Al tener un potencial económico parcial favorable se puede continuar el proyecto y la propuesta puede ser favorable para llevar a cabo a nivel piloto, sin embargo, esta conclusión se obtiene únicamente con los costos relacionados a las materias primas requeridas en el proceso y el rendimiento del aceite esencial por esta razón es un potencial económico parcial y no total.

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Colombia posee una diversidad biológica rica en especies vegetales aprovechables para campos como la medicina, cosmética, higiene y demás, debido a las poblaciones campesinas e indígenas puede conocerse el uso de varias plantas endémicas y de esta manera potenciar y desarrollar su uso a nivel industrial proponiendo productos útiles y amigables con el medio ambiente, sin embargo investigaciones como esta necesitan tiempo y recursos para llevarse a cabo lo que puede ser un limitante en la bioprospección.

La adecuación de la metodología para realizar el bioensayo con *Artemia salina*, tomó aproximadamente 2 meses más del tiempo estipulado inicialmente que era 1 mes debido a que al ser un organismo vivo se tuvo que realizar la adecuación previa por las condiciones ambientales de Bogotá, sin embargo, debía realizarse en pro de obtener mejores resultados.

Teniendo en cuenta los resultados de toxicidad y poder inhibitorio, se propuso hacer un gel antibacterial, pero estas especies se pueden usar para la producción de otros productos no cosméticos, sobre superficies en los que no tiene gran relevancia la toxicidad del producto como es el caso del canelo de páramo (*Drimys grandensis*) cuya toxicidad es alta al tener una DL50 de 17,57 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y aunque presenta poder inhibitorio no se utiliza en productos cosméticos para no generar posibles inconvenientes en la piel, pero si puede utilizarse en la industria.

El producto obtenido presentó una efectividad similar al blanco comercial con el cual se comparó, demostrando la efectividad del aceite esencial, frente al triclosan y las concentraciones comunes de alcohol incluidas en la formulación de los geles antibacteriales normales.

Aunque el rendimiento del aceite esencial es muy bajo al ser de 0,71%, la concentración mínima inhibitoria es muy pequeña al ser de 16 a 32 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y por esta razón no se necesita una producción extensa de aceite esencial para cumplir con los requerimientos del producto.

6. CONCLUSIONES

Como resultado de esta investigación se concluye que:

- Se realizaron los extractos etanólicos de tallo y hojas por maceración de las especies Valeriana (*Valeriana triphylla Kunth*), Poleo arbustivo (*Lippia turbinata*) y canelo de páramo (*Drimys granadensis*), también se obtuvo el aceite esencial del Poleo arbustivo (*Lippia turbinata*) por el método de arrastre con vapor de agua, posteriormente se determinó la DL50 (Dosis letal media) de las especies mediante el ensayo con *Artemia salina* adecuado previamente, obteniendo una DL50 de 1284,39 µg/mL, 635,38 µg/mL y 17,57 µg/mL respectivamente, se sometieron a una prueba de pozos para determinar la actividad antibacteriana, donde el Poleo presentó actividad antibacteriana inhibiendo cepas bacterianas desde una concentración de 0,016 mg/mL de aceite esencial, los demás extractos vegetales evaluados presentaron inhibición a partir de 4 mg/mL el canelo de páramo y 16 mg/mL la Valeriana, razones por las cuales se escogió la especie *Lippia turbinata* Griseb para la realización del producto antibacteriano.
- Se evaluaron 5 tratamientos preparados con la fórmula base correspondiente a la pre formulación N°5 y se varió la concentración de aceite esencial, de la siguiente manera, 0,025%, 1%, 0% que actuó como el control negativo en el cual no se añadió extracto y un gel comercial que actuó como control positivo, para encontrar mediante prueba de manipuladores y difusión por discos la fórmula más efectiva, que resultó ser el tratamiento N°5 con 1% de aceite esencial.
- Se realizaron pruebas de efectividad in vivo e in vitro al gel antibacterial realizado, comprobando que la efectividad del producto es dada por el extracto vegetal, y obteniendo halos de inhibición iguales o menores en 1 mm a los halos obtenidos por el tratamiento comercial, inhibiendo cepas bacterianas como *S. aureus*, *S.epidermis* y *K. pneumoniae*. Se evidenció la disminución en la efectividad del gel con el pasar del tiempo mediante la prueba de difusión en discos con el gel antibacterial fabricado en diciembre de 2016 a comparación del fabricado en febrero de 2017, mostrando el más reciente resultados favorables y cercanos al gel comercial.
- Se determinó el costo de materias primas para el proceso de producción a nivel planta piloto del gel antibacterial incluyendo el proceso de extracción del aceite esencial, dando un costo total de \$3'128.905 para producir 32 L de gel antibacterial, posteriormente se sugirió un precio de venta al público de \$4000 con el cual se obtiene un potencial económico parcial de 1'135.094 COP/32 L, es decir 35472 COP por Litro de gel antibacterial, lo que permite concluir que es un potencial positivo, sin embargo este incluye únicamente los costos asociados a las materias primas.

7. RECOMENDACIONES

- Es conveniente realizar pruebas a condiciones extremas del gel formulado, para determinar la fecha de caducidad y los posibles limitantes, al igual que pruebas de efectividad sobre diferentes cepas bacterianas.
- Se recomienda incluir en la fórmula del producto, conservantes como capsulas de vitamina e, para potenciar la actividad antibacteriana y evitar la oxidación de los agentes activos.
- Utilizar la especie vegetal Poleo (*Lippia turbinata Griseb*) en formulaciones de otros productos antibacterianos para proponer y comprobar el mejor producto con esta especie.
- Teniendo en cuenta el aroma del Poleo (*Lippia turbinata Griseb*) se recomienda profundizar en la industria cosmética y de perfumería para aprovechar las propiedades organolépticas de este aceite esencial además de las propiedades medicinales y antimicrobianas que posee.

BIBLIOGRAFÍA

ALVARADO, Dayanna; GARCÍA, Jorge y ARIAS-ECHANDI, María. Evaluación de la efectividad del alcohol-gel en la desinfección de manos y su estabilidad a través del tiempo. [En línea]. En: Rev. Biomed. Universidad de Costa Rica. (San José). Vol. 21, No. 1, enero-abril de 2010, p. 29-31. [28 de diciembre de 2016]. Disponible en Internet: (<http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2010/bio101e.pdf>)

ARBELAEZ, Jorge. Desarrollo técnico a nivel de laboratorio de una línea de tintura capilar a base de extractos naturales. Trabajo de grado Ingeniero Químico. Bogotá D.C. Universidad de América. Facultad de Ingenierías. Programa de Ingeniería Química. 2004. PAGINAS

BROCKEL, Ulrich; MEIER, Willi & WAGNER, Gerhard. Product design and engineering, Formulation of gels and pastes. Germany. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Boschstr.12, 69469 Weinheim. 2013. 363 p.

CAMPUZANO, Silvia; ALVAREZ, Alicia & CAMACHO, Judith. Caracterización de la flora microbiana y revisión del estado de salud en individuos que laboran en laboratorios de diagnóstico. [En línea]. [10 de noviembre de 2005] En: NOVA-Publicación científica. Disponible en Internet: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/GUIACADEM1_4.pdf

ESPITIA-BAENA, Jorge, et al. Química y biología del extracto etanólico del epicarpio de *Crescentia cujete* L. (totumo). En: Revista Cubana de Plantas Medicinales Vol.16 nº.4. [2011].

FERNANDEZ-CALIENES, Aymé et al. Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. [En línea]. La Habana. En: Rev Cubana Med Trop v.61 n.3. [septiembre a diciembre. 2009]. Disponible en Internet: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602009000300009

GONZALEZ, Ana, et al. Caracterización de cepas de *Klebsiella pneumoniae* productora de b-lactamasa de espectro extendido aisladas en dos unidades de cuidados intensivos . [En línea]. Santiago. En: Revista chilena de Infectología, Vol. 30. Nº 4. 374 p. Disponible en Internet: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182013000400004

GONZALEZ, Angela. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólicos de plantas del Amazonas. Trabajo Final Tecnólogo en alimentos. Manizales. Universidad Nacional de Colombia. Departamento de Ingeniería Química. 2004.100 p.

GRANADOS, Raquel y VILLAVERDE, María del Carmen. Microbiología Tomo 1. Bacteriología, características y clasificación bacteriana. España. Paraninfo. 2003. 325 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Referencias documentales, para fuentes de informaciones electrónicas. NTC. 4490. Bogotá D.C: El instituto, 2008. 30 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Documentación. Presentación de tesis, trabajos de grado y otros trabajos de investigación. NTC1486. Sexta actualización. Bogotá.D.C: El instituto, 2008. 110 p.

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIÓN. Referencias bibliográficas, contenido, forma y estructura. NTC 5613. Bogotá D.C: El instituto, 2008. 38 p.

INVIMA. Armonización de Legislaciones en materia de Productos Cosméticos. [En línea]. [26 de diciembre de 2011]. Disponible en internet: <https://www.invima.gov.co/x-decisiones-cosmeticos/208-decision-516-pacto-andino-marzo-152002.html>.

KOROVESSEI, Ekaterini & LINNINGER, Andreas. Batch Processes. Taylor & Francis Group. 2006. 525 p.

MALBRÁN, Carlos. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. Vol. 32 N°. 2. Clinical and laboratory standards institute. 2012. 48 p. Disponible en Internet: <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-DETERMINACION-DE-LA-SENSIBILIDAD-METODO-DE-DILUCION-2012.pdf>

MARÍN, César y PARRA, Sandra. Bitácora de flora: Guía visual de plantas de páramos en Colombia. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. 2015. 356 p.

MINISTERIO DE AMBIENTE Y DESARROLLO SOSTENIBLE DE COLOMBIA. Principios y criterios del Biocomercio. [En línea]. [9 de mayo de 2017] Disponible en Internet:<http://www.minambiente.gov.co/index.php/component/content/article?id=513:plantilla-negocios-verdes-y-sostenibles-9>

(s.n). Biocomercio Colombia. ¿Qué es Biocomercio?. [En Línea]. [22 de febrero de 2017]. Disponible en Internet: <http://www.biocomerciocolombia.com/#>

OCHOA, Ismael. Colombia, Un futuro prometedor en biocomercio. [En línea]. Bogotá. En: Asonatura. p.56-59. Disponible en Internet: <http://www.asonatura.com/files/COLOMBIA%20Y%20EL%20BIOCOMERCIO.pdf>

PEDRAZA, Paula y CASTELLANOS, Hassbleidy. Estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibioticos de administraci3n intravenosa a traves de m3todos in vitro. Trabajo de grado Microbiolog3a industrial y bacteriolog3a. Bogot3. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias. 2009. 107 p.

PINO PEREZ, Oriela, JORGE LAZO, Fanny. Ensayo de Artemia: 3til herramienta de trabajo para ecotoxic3logos y qu3micos de productos naturales. [En l3nea]. La Habana. En: Rev. Protecci3n Vegetal. Vol. 25. N31. [Enero-abril de 2010]. Disponible en Internet: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522010000100008

PRATS, Guillem. Microbiolog3a cl3nica. Barcelona. 1ra edici3n. Editorial m3dica Panamericana.2005. 369 p.

ROMERO CABELLO, Ra3l. Microbiologia y parasitologia humana. 3ra edici3n. M3xico. Editorial m3dica Panamericana. 2007. 1750 p.

SORGELOOS, Patrick et al. Manual para el cultivo y uso de Artemia en acuicultura. Obtenido de la FAO [En l3nea]. [20 de febrero de 2017]. Disponible en: (<http://www.fao.org/3/contents/ffb7b54e-65ee-5d8f-b>)

SOTO, Mar3a Ysabel. Determinaci3n del efecto antimicrobiano in vitro de un gel elaborado con extracto etan3lico de hojas de Senecio rhizomatus Rusby (Asteraceae). Tesis Quimico Farmaceutico. Lima, Per3: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioqu3mica. 2015. 78 p.

STASHENKO, Elena. Aceites esenciales. Bucaramanga- Santander: Divisi3n de publicaciones UIS. 2009. 180 p.

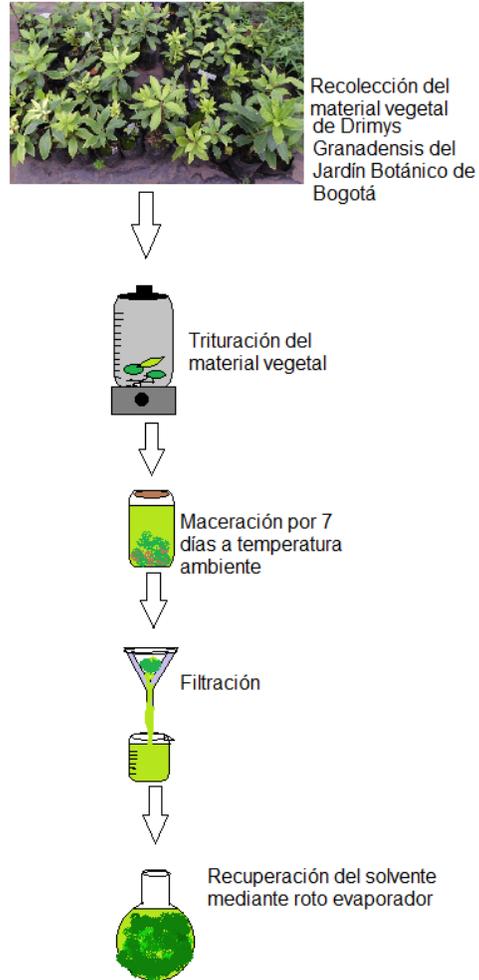
UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS. Caracter3sticas de Bogot3. [En l3nea] . Bogot3. Disponible en Internet: <https://www.udistrital.edu.co/universidad/colombia/bogota/caracteristicas/>

ANEXOS

ANEXO A. DIAGRAMAS PARA LA EXTRACCIÓN DE LAS ESPECIES VEGETALES

A continuación, se presentarán los diagramas para la extracción de las especies vegetales.

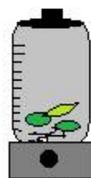
OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Drimys granadensis*



OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Lippia turbinata* Griseb



Recolección del material vegetal de *Lippia Turbinata* del Jardín Botánico de Bogotá



Trituración del material vegetal



Maceración por 7 días a temperatura ambiente



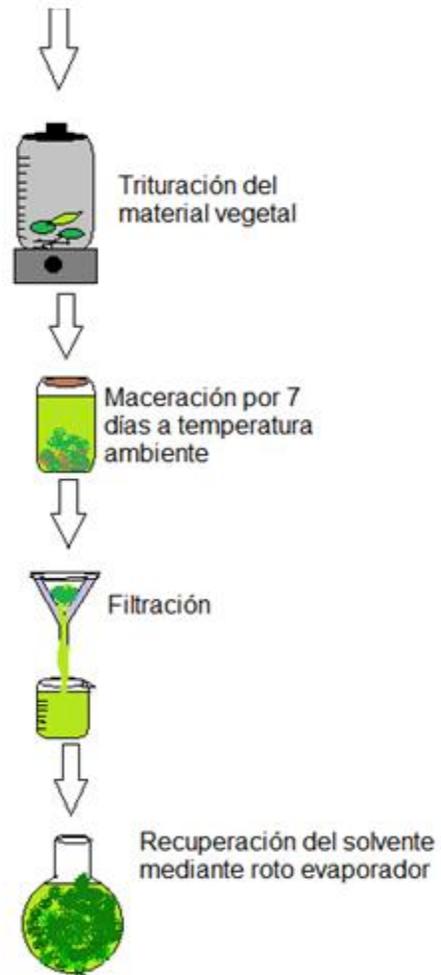
Filtración



Recuperación del solvente mediante roto evaporador

OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Valeriana triphylla* Kunth

Recolección del material vegetal de *Valeriana triphylla* en el JBB.



**ANEXO B.
ANÁLISIS PROBIT TOXICIDAD**

Valeriana triphylla

ANÁLISIS DE
VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	1,54341358	1,543413579	128,689 6214	3,28628E-06
Residuos	8	0,09594642	0,011993303		
Total	9	1,63936			

	<i>Coefficiente</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
Intercepción	3,5708309	0,07913324	45,12428695	6,42398 E-11	3,3883493 27	3,75331 247	3,38834 9327
Variabla X 1	0,45968513	0,0405218	11,34414481	3,28628 E-06	0,3662416 99	0,55312 856	0,36624 1699

Drimys Granadensis

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
	1	14,8521027	14,8521027	132,43257 6	2,9478E-06
	8	0,89718727	0,11214841		
	9	15,74929			

<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
3,22709791	0,24198369	13,3360142	9,5542E-07	2,6690825 2	3,7851133	2,6690825 2
1,42597946	0,12391271	11,5079354	2,9478E-06	1,1402362 3	1,7117226 8	1,1402362 3

Lippia turbinata

ANÁLISIS DE
VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	3,20803961	3,20803961	74,8994238	2,4689E-05
Residuos	8	0,34265039	0,0428313		
Total	9	3,55069			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95,0%</i>
Intercepción	3,14529411	0,1495444	21,03251	2,742E-08	2,80044411	3,49014412	2,80044411
Variablen X 1	0,66273386	0,07657728	8,65444532	2,4689E-05	0,48614634	0,83932137	0,48614634

**ANEXO C.
LISTA DE PREFORMULACIONES**

A continuación, se citarán las 5 pre formulaciones que se prepararon para la fórmula base del diseño de producto.

PREFORMULACIÓN 1

MATERIAS PRIMAS	CONCENTRACIÓN (%)	CANTIDAD (g o MI)	CANTIDAD (g)	COMPOSICIÓN (%) másico
NOMBRE QUÍMICO				
Alcohol etílico	96	62	50.344	50.8402
Glicerina	100	4	5.04	5.0896
Carbopol	100	0.5	0.5	0.5049
Trietanolamina	100	1	5.14	5.1906
Agua Desionizada	100	38	38	38.3745

PREFORMULACIÓN 2

MATERIAS PRIMAS	CONCENTRACIÓN (%)	CANTIDAD (g o mL)	CANTIDAD (g)	COMPOSICIÓN (%)
NOMBRE QUÍMICO				
Alcohol etílico	96	50	40.6	42.1862
Glicerina	100	0	0	0
Carbopol	100	0,5	0.5	0.5195
Trietanolamina	100	1	5.14	5.3408
Agua Desionizada	100	50	50	51.9534

PREFORMULACIÓN 3

MATERIAS PRIMAS	CONCENTRACIÓN (%)	CANTIDAD (g o mL)	CANTIDAD (g)	COMPOSICIÓN (%)
NOMBRE QUÍMICO				
Alcohol etílico	96	10	8.12	7.8257
Glicerina	100	0	0	0
Carbopol	100	0,5	0.5	0.4819
Trietanolamina	100	1	5.14	4.9537
Agua Desionizada	100	90	90	86.7386

PREFORMULACIÓN 4

MATERIAS PRIMAS	CONCENTRACIÓN (%)	CANTIDAD (g o mL)	CANTIDAD (g)	COMPOSICIÓN (%)
NOMBRE QUÍMICO				
Alcohol etílico	96	30	24.36	25.0568
Glicerina	100	1	1.26	1.2443
Carbopol	100	0,5	0.5	0.4937
Trietanolamina	100	1	5.14	5.0760
Agua Desionizada	100	70	70	69.1289

PREFORMULACIÓN 5

MATERIAS PRIMAS	CONCENTRACIÓN (%)	CANTIDAD (g o mL)	CANTIDAD (g)	COMPOSICIÓN (%)
NOMBRE QUÍMICO				
Alcohol etílico	96	10	8.12	7.7319
Glicerina	100	1	1.26	1.1997
Carbopol	100	0,5	0.5	0.476
Trietanolamina	100	1	5.14	4.8943
Agua Desionizada	100	90	90	85.6979

**ANEXO D.
LISTA DE TRATAMIENTOS Y/O FORMULACIONES**

A continuación, se citarán las 4 formulaciones evaluadas en las pruebas de efectividad y estabilidad del producto.

FORMULACIÓN 1

MATERIAS PRIMAS	CONCENTRACIÓN (%)	CANTIDAD (g o mL)	CANTIDAD (g)	COMPOSICIÓN (%)
NOMBRE QUÍMICO				
Extracto o aceite esencial	100	0,5	0.4425	0,41958042
Alcohol etílico	96	10	8.12	7,699419225
Glicerina	100	1	1.26	1,194737466
Carbopol	100	0,5	0.5	0,474102169
Trietanolamina	100	1	5.14	4,873770297
Agua Desionizada	100	90	90	85,33839042

FORMULACIÓN 2

MATERIAS PRIMAS	CONCENTRACIÓN (%)	CANTIDAD (g o mL)	CANTIDAD (g)	COMPOSICIÓN (%)
Extracto o aceite esencial	100	2		1
Alcohol etílico	96	10		7,60370821
Glicerina	100	1		1
Carbopol	100	0,5		0,5
Trietanolamina	100	1		4,81318476
Agua Desionizada	100	90		90

FORMULACIÓN 3

MATERIAS PRIMAS	CONCENTRACIÓN (%)	CANTIDAD (g o mL)	CANTIDAD (g)	COMPOSICIÓN (%)
Extracto o aceite esencial	100	0	0	0
Alcohol etílico	96	10	8.12	7.7318
Glicerina	100	1	1.26	1.1998
Carbopol	100	0,5	0.5	0.4760
Trietanolamina	100	1	5.14	4.8943
Agua Desionizada	100	90	90	85.6979

ANEXO E.
TABLA DE MEDICIÓN DE pH Y PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS POR 6 SEMANAS.

Tratamiento 1- 0,025% Aceite																					
S.	Fecha	pH- T=22					Color					Olor					Textura				
1	20-dic-16	9,8	9,69	9,6	9,8	9,7	1	1	1	1	1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
2	27-dic-16	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	1	1	1	1	1	2	4	4	4	5	5	5	5	5	
3	03-ene-17	9,7	9,7	9,7	9,7	9,6	1	1	1	1	1	5	4	4	4	4	5	5	5	5	
4	10-ene-17	9,65	9,8	9,7	9,8	9,9	1	1	1	1	1	5	5	5	5	5	3	5	5	4	
5	17-ene-17	9,56	9,55	9,5	9,6	9,6	1	1	1	1	1	5	5	5	5	5	4	4	4	5	
6	24-ene-17	9,6	9,6	9,6	9,5	9,6	1	1	1	1	1	5	5	5	5	5	4	4	4	5	
Tratamiento 2- 1% Aceite																					
S.	Fecha	pH					Color					Olor					Textura				
1	20-dic-16	9,51	9,76	9,5	9,6	9,9	1	1	1	1	1	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
2	27-dic-16	9,9	9,9	9,9	9,7	9,7	1	1	1	1	1	3	4	4	4	4	3	3	4	4	
3	03-ene-17	9,9	9,9	9,7	9,9	9,9	1	1	1	1	1	4	4	5	5	4	4	5	4	5	
4	10-ene-17	9,8	9,9	9,7	9,9	9,7	1	1	1	1	1	2	5	4	4	5	4	4	4	5	
5	17-ene-17	9,9	9,8	9,6	9,8	9,6	1	1	1	1	1	4	5	4	4	5	4	4	5	5	
6	24-ene-17	9,7	9,6	9,7	9,7	9,6	1	1	1	1	1	5	5	5	5	5	4	4	5	5	
Tratamiento 3- 0% Aceite																					
S.	Fecha	pH					Color					Olor					Textura				
1	20-dic-16	8,66	8,39	8,4	8,4	8,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	4	4	4	
2	27-dic-16	8,45	8,45	8,4	8,4	8,4	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	3	3	3	2	
3	03-ene-17	8,6	8,58	8,5	8,5	8,4	1	1	1	1	1	2	1	1	2	2	3	3	4	5	
4	10-ene-17	8,6	8,57	8,6	8,7	8,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	5	3	4	
5	17-ene-17	8,45	8,6	8,5	8,5	8,5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	4	4	4	
6	24-ene-17	7,6	7,7	7,7	7,8	7,9	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5	4	4	5	
Tratamiento 4- Comercial																					
S.	Fecha	pH					Color					Olor					Textura				
1	20-dic-16	7,22	7,22	7,2	7,2	7,2	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	5	5	5	5	
2	27-dic-16	7,27	7,27	7,3	7,3	7,3	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	5	5	5	5	
3	03-ene-17	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	5	5	5	5	
4	10-ene-17	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	5	5	5	5	
5	17-ene-17	7,61	7,61	7,6	7,6	7,6	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	5	5	5	5	
6	24-ene-17	8,1	8,1	8,1	8,1	8,1	1	1	1	1	1	3	3	3	3	3	5	5	5	5	

ANEXO F.
ILUSTRACIONES DE LOS INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN
PLANCHA DE CALENTAMIENTO CON AGITACIÓN MAGNÉTICA
NAHITA



BALANZA DIGITAL OHAUS



PH-METRO FIELDSCOUT



MICROPIPETA 100-1000 ML ISAAC

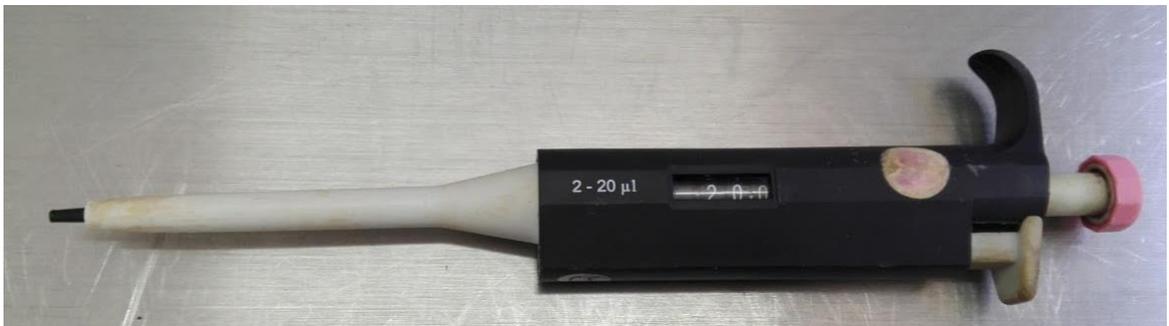


MICROPIPETA 20-200 ML ISAAC Y ACCUMAX





MICROPIPETA 2-20 ML ACCUMAX



AUTOCLAVE ALL AMERICAN



ESTUFA INCUBADORA E&Q



ANEXO G. CERTIFICADOS DE CALIBRACIÓN



Certificado de Calibración
Certificate of Calibration

Página: 1 de 3

No. 18020257

DATOS DEL CLIENTE / Customer Data

NOMBRE <i>Name</i>	JARDIN BOTANICO DE BOGOTÁ JOSÉ CELESTINO MUTIS
DIRECCIÓN <i>Address</i>	AVENIDA CALLE 63 N° 68 - 95
CIUDAD <i>City</i>	BOGOTÁ D.C.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DEL INSTRUMENTO / Technical Characteristics of the Instrument

INSTRUMENTO <i>Instrument</i>	AUTOCLAVE		
FABRICANTE <i>Manufacturer</i>	ALL AMERICAN		
MODELO <i>Model</i>	25X		
NÚMERO SERIAL <i>Serial Number</i>	NO APLICA		
CODIGO <i>Code</i>	006663		
RANGO DE MEDICIÓN <i>Measurement Range</i>	100°C a 134°C		
DIVISIÓN DE ESCALA <i>Scale Interval</i>	1,4°C	RESOLUCIÓN <i>Resolution</i>	0,7°C
UBICACIÓN <i>Location</i>	PREPARACIÓN DE MEDIOS		

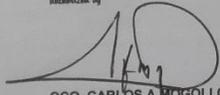
CONDICIONES AMBIENTALES / Environmental Conditions

TEMPERATURA AMBIENTE <i>Ambient Temperature</i>	24,5°C
HUMEDAD RELATIVA <i>Relative Humidity</i>	50%HR

DATOS DE LA CALIBRACIÓN / Data Calibration

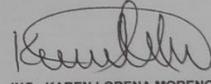
LUGAR DE MEDICIÓN <i>Place of Measurement</i>	PREPARACIÓN DE MEDIOS
FECHA DE CALIBRACIÓN <i>Date of Calibration</i>	2016-01-15

AUTORIZADO POR
authorized by



QCO. CARLOS A MOGOLLÓN P
Director Técnico

REVISADO POR
Reviewed by



ING. KAREN LORENA MORENO
Coordinador Laboratorio

2016-01-20
FECHA DE EMISIÓN
Date of Issuance

Carrera 25 No 70-07 PBX (1) 541 19 26 Fax (1) 548 41 63 Bogotá D.C
www.cmycltda.com e-mail: clientes@cmy



CM y cia. Ltda.



Certificado de Calibración

Certificate of Calibration

Nº LMP-527

Página 1 de 3

DATOS DEL CLIENTE / Customer Data

NOMBRE <i>Name</i>	JARDÍN BOTÁNICO DE BOGOTÁ - JOSÉ CELESTINO MUTIS
DIRECCIÓN <i>Address</i>	AVENIDA CALLE 63 No.68-95
CIUDAD <i>City</i>	BOGOTÁ D.C.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS DEL INSTRUMENTO / Technical Characteristics of the Instrument

INSTRUMENTO <i>Instrument</i>	MEDIDOR DE pH
FABRICANTE <i>Manufacturer</i>	HANNA
MODELO <i>Model</i>	HI 98103
NÚMERO SERIAL <i>Serial Number</i>	NO APLICA
CÓDIGO	012135
RANGO DE MEDICIÓN <i>Measurement Range</i>	0 pH A 14 pH
RESOLUCIÓN <i>Resolution</i>	0,01pH
UBICACIÓN <i>Location</i>	LABORATORIO MULTIPROPÓSITOS

CONDICIONES AMBIENTALES/ Environmental Conditions

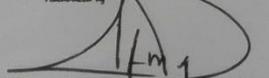
TEMPERATURA AMBIENTE <i>Ambient Temperature</i>	22,5°C
HUMEDAD RELATIVA <i>Relative Humidity</i>	54%HR

DATOS DE LA CALIBRACIÓN/ Data Calibration

LUGAR DE MEDICIÓN <i>Place of Measurement</i>	LABORATORIO MULTIPROPÓSITOS
FECHA DE CALIBRACIÓN <i>Date of Calibration</i>	2015-11-03

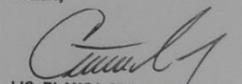
AUTORIZADO POR

Authorized by


QCO. CARLOS A. MOGOLLÓN P.
Director Técnico

REVISADO POR

Reviewed by


LIC. BLANCA CEIDY CLAVIJO O.
Subdirector Técnico

2015-11-10
FECHA DE EMISIÓN
Date of Issuance

**ANEXO H.
FICHAS DE SEGURIDAD**

ALCOHOL ETILICO 96°

1. Identificación de la sustancia/preparado y de la sociedad o empresa

1.1

Identificación de la sustancia o del preparado

Denominación:

Alcohol Etílico 96°

1.2 Uso de la sustancia o preparado:

Para usos de laboratorio, análisis, investigación y química fina.

1.3 Identificación de la sociedad o empresa:

CONTROL TÉCNICO Y REPRESENTACIONES, S.A. DE C.V.

Av. Lincoln No. 3410 Pte. Col. Mitras Norte

www.ctr.com.mx

Tels. (81) 8158 0600, 8158 0628, 8158 0633

e-mail : ctrscientific@infosel.net.mx

Apdo. Postal 044-C Monterrey N.L. C.P. 64320, México

2. Identificación de los peligros

2.1 Fácilmente inflamable.

3. Composición/Información de los componentes

3.1

Denominación: Etanol absoluto

Fórmula: CH₃CH₂OH M.=46,07

4. Primeros auxilios

4.1 Indicaciones generales:

En caso de pérdida del conocimiento nunca dar a beber ni provocar el vómito.

4.2 Inhalación:

Trasladar a la persona al aire libre. En caso de que persista el malestar, pedir atención médica.

4.3 Contacto con la piel:

Lavar abundantemente con agua. Quitarse las ropas contaminadas.

4.4 Ojos:

Lavar con agua abundante manteniendo los párpados abiertos.

4.5 Ingestión:

Beber agua abundante. Provocar el vómito. No administrar eméticos. No administrar carbón animal. No beber leche. Pedir atención médica.

5. Medidas de lucha contra incendio

5.1 Medios de extinción adecuados:

Agua. Dióxido de carbono (CO₂). Espuma. Polvo seco.

5.2 Medios de extinción que NO deben utilizarse:

5.3 Riesgos especiales:

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD
ALCOHOL ETILICO 96°

Inflamable. Mantener alejado de fuentes de ignición. Los vapores son más pesados que el aire, por lo que pueden desplazarse a nivel del suelo. Riesgo de inflamación por acumulación de cargas electrostáticas.

5.4 Equipos de protección:

6. Medidas a tomar en caso de vertido accidental

6.1 Precauciones individuales:

6.2 Precauciones para la protección del medio ambiente:

6.3 Métodos de recogida/limpieza:

Recoger con materiales absorbentes o en su defecto arena o tierra secas y depositar en contenedores para residuos para su posterior eliminación de acuerdo con las normativas vigentes.

7. Manipulación y almacenamiento

7.1 Manipulación:

Sin indicaciones particulares.

7.2 Almacenamiento:

Recipientes bien cerrados. En local bien ventilado. Alejado de fuentes de ignición y calor. Temperatura ambiente.

8. Controles de exposición/protección personal

8.1 Medidas técnicas de protección:

Asegurar una buena ventilación y renovación de aire del local.

8.2 Control límite de exposición:

VLA-ED: 1000 ppm ó 1910 mg/m³

8.3 Protección respiratoria:

En caso de formarse vapores/aerosoles, usar equipo respiratorio Adecuado. Filtro P. Filtro A.

8.4 Protección de las manos:

Usar guantes apropiados (neopreno, nitrilo, PVC)

8.5 Protección de los ojos:

Usar gafas apropiadas.

8.6 Medidas de higiene particulares:

Quitarse las ropas contaminadas. Lavarse las manos antes de las pausas y al finalizar el trabajo.

8.7 Controles de la exposición del medio ambiente:

Cumplir con la legislación local vigente sobre protección del medio ambiente.

El proveedor de los medios de protección debe especificar el tipo de protección que debe usarse para la manipulación del producto, indicando el tipo de material y, cuando proceda, el tiempo de

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD
ALCOHOL ETILICO 96°

penetración de dicho material, en relación con la cantidad y la duración de la exposición.

9. Propiedades físicas y químicas

Aspecto:

Líquido transparente e incoloro.

Olor: Característico.

Punto de ebullición :78,5°C

Punto de fusión : -114,1°C

Punto de inflamación : 13°C

Temperatura de auto ignición : 425°C

Presión de vapor: (20°C) 59 mbar

Densidad (20/4): 0,804

Solubilidad: Miscible con agua

10. Estabilidad y reactividad

10.1 Condiciones que deben evitarse:

Temperaturas elevadas.

10.2 Materias que deben evitarse:

Metales alcalinos. Óxidos alcalinos. Agentes oxidantes fuertes.

10.3 Productos de descomposición peligrosos:

10.4 Información complementaria:

Los gases / vapores pueden formar mezclas explosivas con el aire.

11. Información toxicológica

11.1 Toxicidad aguda:

DL50 oral rata: 7060 mg/kg

11.2 Efectos peligrosos para la salud:

Por inhalación de vapores: Irritaciones en mucosas leves. Riesgo de absorción cutánea.

Por contacto ocular: irritaciones leves.

Por ingestión: Puede provocar náuseas, vómitos.

Efectos sistémicos: embriaguez, vértigo, narcosis, parálisis respiratoria.

12. Información Ecológica

12.1 Movilidad :

12.2 Ecotoxicidad :

12.2.1 - Test EC50 (mg/l):

Bacterias (Photobacterium phosphoreum) = 47000 mg/l;

Clasificación: Tóx.

Bacterias (Ps. putida) = EC0 >6500 mg/l; Clasificación: Tóx.

Algas (Sc. quadricauda) = EC0 >5000 mg/l; Clasificación: Tóx.

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD

ALCOHOL ETILICO 96°

Algas (M. aeruginosa) = EC0 >1450 mg/l; Clasificación: Tóx.

Crustáceos (Daphnia Magna) = EC0 >7800 mg/l; Clasificación: Tóx.

Peces = >10.000 mg/l; Clasificación: Tóxico o poco tóxico.

12.2.2 - Medio receptor:

Riesgo para el medio acuático = Bajo

Riesgo para el medio terrestre = Bajo

12.2.3 - Observaciones:

Compuesto no ecotóxico si la concentración del vertido no es muy elevada.

12.3 Degradabilidad :

12.3.1 - Test: -----

12.3.2 - Clasificación sobre degradación biótica:

DBO5/DQO Biodegradabilidad = Alta, más de 1/3

12.3.3 - Degradación abiótica según pH: -----

12.3.4 - Observaciones:

Producto fácilmente biodegradable.

12.4 Acumulación :

12.4.1 - Test:

12.4.2 - Bioacumulación:

Riesgo = -----

12.4.3 - Observaciones:

Producto no bioacumulable.

12.5 Otros posibles efectos sobre el medio natural :

Producto no contaminante.

13. Consideraciones sobre la eliminación

13.1 Sustancia o preparado:

En América no están establecidas pautas homogéneas para la eliminación de residuos químicos, los cuales tienen carácter de residuos especiales, quedando sujetos su tratamiento y eliminación a los reglamentos internos de cada país. Por tanto, en cada caso, procede contactar con la autoridad competente, o bien con los gestores legalmente autorizados para la eliminación de residuos.

13.2 Envases contaminados:

Los envases y embalajes contaminados de sustancias o preparados peligrosos, tendrán el mismo tratamiento que los propios productos contenidos.

14. Información relativa al transporte

14.1

Terrestre (ADR):

Denominación técnica: ETANOL (ALCOHOL ETÍLICO)

ONU 1170 Clase: 3 Grupo de embalaje: II (D/E)

Marítimo (IMDG):

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD

ALCOHOL ETILICO 96°

Denominación técnica: ETANOL (ALCOHOL ETÍLICO)

ONU 1170 Clase: 3 Grupo de embalaje: II

Aéreo (ICAO-IATA):

Denominación técnica: Etanol 96°

ONU 1170 Clase: 3 Grupo de embalaje: II

Instrucciones de embalaje: CAO 307 PAX 305

15. Información reglamentaria

15.1 Etiquetado

Símbolos:

Indicaciones de peligro: Fácilmente inflamable

Fácilmente inflamable.

Manténgase el recipiente bien cerrado. Conservar alejado de toda

llama o fuente de chispas - No fumar.

16. Otra información

0

3

0

Grados de NFPA: Salud: **0** inflamabilidad: **3** reactividad: **0**

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD

ALCOHOL ETILICO 96°

Renuncia:

CTR Scientific proporciona la información contenida aquí de buena fe, sin embargo, no hace ninguna representación en cuanto a su integridad o exactitud. Es intención que se utilice este documento sólo como una guía para el manejo del material con la precaución apropiada, por una persona adecuadamente capacitada en

el uso de este producto. Los individuos que reciban la información deben ejercer su juicio independiente al determinar la conveniencia del producto para un uso particular. CTR SCIENTIFIC, NO GESTIONA O DA GARANTÍA ALGUNA, EXPRESA O IMPLÍCITA, INCLUYENDO SIN LIMITACIÓN CUALQUIER GARANTÍA DE COMERCIALIZACIÓN, O CONVENIENCIA PARA UN PROPÓSITO PARTICULAR, CON RESPECTO A LA INFORMACIÓN EXPUESTA EN EL PRESENTE DOCUMENTO O DEL PRODUCTO AL QUE SE REFIERE LA INFORMACIÓN. POR CONSIGUIENTE, CTR SCIENTIFIC, NO SERÁ RESPONSABLE DE DAÑOS QUE RESULTEN DEL USO O CONFIANZA QUE SE TENGA EN ESTA INFORMACIÓN.



Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Conforme al Reglamento (CE) N° 1907/2006 (REACH)

1.- Identificación de la sustancia o del preparado y de la sociedad o empresa

Identificación de la sustancia o del preparado

Denominación: Carbopol 940 BP

Identificación de la sociedad o empresa: Acofarma Distribución S.A.

Llobregat, 20

08223-Terrassa. España.

Tel: 93 736 00 88 / Fax: 93 785 93 62

Teléfono de urgencias: Instituto Nacional de Toxicología. Madrid. Tel: 91 562 04 20

2.- Identificación de los peligros

Clasificación de la sustancia o de la mezcla

De acuerdo al Reglamento (EC) No1272/2008

Lesiones oculares graves o irritación ocular, categoría 2.

De acuerdo con la Directiva Europea 67/548/CEE, y sus enmiendas.

Irrita los ojos.

Elementos de la etiqueta

Pictograma

Palabra de advertencia Atención

Indicación(es) de peligro

H319: Provoca irritación ocular grave.

Declaración(es) de prudencia

P305/351/338: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

Símbolo(s) de peligrosidad

Xi Irritante

Frase(s) – R

36 Irrita los ojos.

Frase(s) – S

26-39 En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. Úsese protección para los ojos/la cara.

Otros Peligros - ninguno(a)

3.- Composición/información sobre los componentes

CAS-Nº.: 9007-20-9 EINECS-Nº.: -----

PM: -----

Fórmula molecular: (C₃H₄O₂)_n Caracterización química: polímero acrílico reticulado CARBOPOL 940.FDS Página 2 de 5

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Carbopol 940 BP

4.- Primeros auxilios

En caso de contacto con la piel: lavar con abundantes cantidades de agua durante, al menos, 15 minutos.

En caso de contacto con los ojos: lavar inmediatamente con abundantes cantidades de solución fisiológica salina al 1%. durante, al menos, 15 minutos manteniendo abiertos los párpados. Si no se dispone de la solución fisiológica, lavar con abundantes cantidades de agua durante, al menos, 15 minutos. Llamar a un médico. El polvo seco que puede depositarse en los ojos inadvertidamente causa menos irritación cuando se limpia con una solución fisiológica salina al 1%.

El agua hincha el producto como un film gelatinoso que puede ser difícil de quitar sólo con agua.

5.- Medidas de lucha contra incendios

Medios de extinción adecuados:

Agua pulverizada, dióxido de Carbono (CO₂) que es un poco menos efectivo debido a su falta de capacidad para enfriar , polvo químico seco o espuma apropiada.

Procedimientos especiales para la lucha contra incendios:

Usar aparato de respiración autónomo y ropa protectora para evitar el contacto con la piel y los ojos.

Riesgos especiales:

Con cualquier material en forma de polvo, este producto puede formar mezclas explosivas con el aire.

Emite humos tóxicos en caso de incendio.

6.- Medidas a tomar en caso de vertido accidental

Usar aparato de respiración autónomo, botas y guantes fuertes de goma.

Utilizar indumentaria protectora.

Disponer de solución fisiológica salina 1% para lavar los ojos. Evitar el contacto con los ojos.

Recoger en seco, poner en una bolsa y conservar para su posterior eliminación como residuo.

Evitar levantar polvo.

Evitar el uso de agua para lavar, pues forma una capa resbaladiza.

7.- Manipulación y almacenamiento

Consultar sección 8.

8.- Controles de exposición/protección personal

Protección personal:

Ropa de protección adecuada.

Protección respiratoria: Máscara de respiración homologada para exposiciones superiores a 0.05 mg/m³.

Protección de las manos: Guantes químico-resistentes.

Protección de los ojos: Gafas de seguridad.

Medidas de higiene particulares:

Ducha de seguridad y baño para los ojos. CARBOPOL 940.FDS Página 3 de 5

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Carbopol 940 BP

Evitar todo contacto con ojos, piel y ropas. Evitar la acumulación de polvo. No respirar el polvo.

Mantener alejado de fuentes de ignición. Producto muy higroscópico.

Lavarse cuidadosamente, manos y piel, después de cada manipulación.

Almacenamiento:

Mantener herméticamente cerrado. Evitar cargas electroestáticas.

En lugar fresco, seco y ventilado. Evitar la humedad.

9.- Propiedades físicas y químicas

Estado físico: Sólido

Color: Blanco

Olor: Ligeramente ácido.

Valor pH

(solución acuosa 1%) aprox. 3

Punto de ignición 520 °C

Limites valores críticos para explosión

Inferior: 100 g/m³

Superior: No determinado

Solubilidad en

Agua Soluble lento

Etanol Muy poco soluble

Cloroformo Insoluble

Éter Insoluble

10.- Estabilidad y reactividad

Estabilidad:

Estable si se usa de acuerdo con las especificaciones.

Condiciones a evitar:

Humedad.

Materias a evitar:

Bases fuertes.

Productos de descomposición/combustión peligrosos:

Humos tóxicos de: monóxido de Carbono, dióxido de Carbono. Hidrocarburos alifáticos y aromáticos.

Polimerización peligrosa:

No ocurre.

11.- Información toxicológica

Toxicidad aguda:

Polímero acrílico reticulado (oral, rata): >2500 mg/kg

Polímero acrílico reticulado (dermal, conejo): >3000 mg/kg CARBOPOL 940.FDS

Página 4 de 5

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Carbopol 940 BP

Puede causar irritación en ojos.

Puede ser irritante de las membranas mucosas y del tracto respiratorio superior a altas concentraciones

de exposición. Puede ser nocivo por inhalación a altas concentraciones.

Información adicional:

La inflamación de la piel (dermatitis) puede ocurrir en casos de sensibilidad individuales bajo

condiciones extremas, contacto prolongado o repetido, exposición excesiva y alta temperatura y

contacto con la ropa contaminada.

12.- Informaciones ecológicas

Información general:

No verter el producto en acuíferos, ni alcantarillado.

Toxicidad aguda estática (96 H): Bluegil, Sunfish: LC50= 580 – 2000 mg/l

Daphnia Magna: LC50= 168 – 280 mg/l

13.- Consideraciones relativas a la eliminación

Producto:

Disolver o mezclar con un solvente combustible adecuado e incinerar en instalaciones apropiadas.

En la Unión Europea no están regulados, por el momento, los criterios homogéneos para la

eliminación de residuos químicos. Aquellos productos químicos, que resultan como residuos del uso cotidiano de los mismos, tienen en general, el carácter de residuos especiales. Su eliminación en los países comunitarios se encuentra regulada por leyes y disposiciones locales.

Le rogamos contacte con aquella entidad adecuada en cada caso (Administración Pública, o bien Empresa especializada en la eliminación de residuos), para informarse sobre su caso particular.

Envases:

Su eliminación debe realizarse de acuerdo con las disposiciones oficiales. Para los embalajes contaminados deben adoptarse las mismas medidas que para el producto contaminante. Los embalajes no contaminados se tratarán como residuos domésticos o como material reciclable.

14.- Información relativa al transporte

Contactar con ACOFARMA, S.C.L. para información relativa al transporte.

15.- Información Reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamentación (CE) No. 1907/2006. CARBOPOL 940.FDS Página 5 de 5

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Carbopol 940 BP

16.- Otras informaciones

Texto de códigos H y frases R mencionadas en la sección 2

Fecha de emisión: 08-05-00

Fecha de revisión: 16-01-09

Fecha de edición 2ª: 23-12-10

Los datos suministrados en esta ficha de seguridad se basan en nuestro actual conocimiento. Describen tan sólo las medidas de seguridad en el manejo de este producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Conforme al Reglamento (CE) N° 1907/2006 (REACH)

1.- Identificación de la sustancia o del preparado y de la sociedad o empresa

Identificación de la sustancia o del preparado

Denominación: Glicerina RFE / Ph. Eur

Identificación de la sociedad o empresa: Acofarma Distribución S.A.

Llobregat, 20

08223-Terrassa. España.

Tel: 93 736 00 88 / Fax: 93 785 93 62

Teléfono de urgencias: Instituto Nacional de Toxicología. Madrid. Tel: 91 562 04 20

2.- Identificación de los peligros

Clasificación de la sustancia o de la mezcla

De acuerdo al Reglamento (EC) No1272/2008

Irritación ocular (Categoría 2)

Esta sustancia no esta clasificada como peligrosa según la Directiva 67/548/CEE.

Elementos de la etiqueta

Pictograma

Palabra de advertencia Atención

Indicación(es) de peligro

H319 Provoca irritación ocular grave.

Declaración(es) de prudencia

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Otros Peligros - ninguno(a)

3.- Composición/información sobre los componentes

CAS-Nº.: 56-81-5 EINECS.: 200-289-5

PM: 92.10

Fórmula molecular: C3 H8 O3 Sinónimos: E-422

4.- Primeros auxilios

Tras inhalación: Sacar al sujeto al aire libre. Si tiene dificultad para respirar, llamar al médico.

Tras contacto con la piel: Lavar inmediatamente la piel con jabón y abundante cantidad de agua.

Tras contacto con los ojos: Enjuagar con abundante cantidad de agua durante 15 minutos por lo menos. Separar los párpados con los dedos para asegurar el buen enjuague de los ojos. Llamar al médico.

Tras ingestión: Lavar la boca con agua si el sujeto está consciente. Llamar al médico.

5.- Medidas de lucha contra incendios

Medios de extinción adecuados: GLICERINA.FDS Página 2 de 4

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Glicerina RFE / Ph. Eur

Agua pulverizada, CO₂, espuma apropiada, polvo químico seco.

Riesgos especiales:

Emite humos tóxicos en caso de incendio.

Equipo de protección especial para el personal de lucha contra incendios:

Usar un aparato respiratorio autónomo y ropa protectora para evitar el contacto con la piel y los ojos.

6.- Medidas a tomar en caso de vertido accidental

Absorber con arena o vermiculita y colocar en recipientes cerrados para eliminación. Ventilar el local y lavar el lugar donde se haya derramado el producto una vez retirado por completo.

7.- Manipulación y almacenamiento

Manipulación:

Evitar la inhalación. Evitar el contacto con los ojos, la piel o la ropa. Evitar la exposición prolongada o repetida.

Almacenamiento:

Mantener herméticamente cerrado.

Requisitos especiales:

Higroscópico.

8.- Controles de exposición/protección personal

Protección personal:

Protección respiratoria: Necesaria en presencia de vapores/aerosoles.

Protección de las manos: Precisa.

Protección de los ojos: Innecesaria.

Medidas de higiene particulares:

Sustituir la ropa contaminada. Lavarse las manos al finalizar el trabajo.

9.- Propiedades físicas y químicas

Estado físico: Líquido claro y viscoso

Color: Incoloro

Olor: Inodoro

Valor pH

(a 100 g/l H₂O) (20°C) 5.5 – 8.0

Viscosidad dinámica (20°C) 1400 mPa*s

Punto de fusión 20 °C

Punto de ebullición 290 °C

Punto de ignición aprox. 429 °C

Punto de destello 177 °C

Limites de explosión bajo 0.19 Vol%

alto no disponible

Presión de vapor (20°C) 0.01 mbar

Densidad (20°C) 1.26 g/cm³ GLICERINA.FDS Página 3 de 4

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Glicerina RFE / Ph. Eur

Solubilidad en

agua (20C) soluble

Descomposición térmica >290 °C

10.- Estabilidad y reactividad

Estable:

Estable

Condiciones a evitar:

Humedad

Materias a evitar:

Bases fuertes, agentes extremadamente oxidantes.

Productos de descomposición peligrosos:

Monóxido de carbono, Dióxido de carbono.

Polimerización peligrosa:

No se producirá.

11.- Información toxicológica

Toxicidad aguda:

DL50 (oral, rata): 12600 mg/kg

CL50 (inhalativo, rata): >570 mg/m³/1h

Informaciones adicionales sobre toxicidad:

Producto natural.

Tras inhalación: Irritación de vías respiratorias, pulmones.

Tras contacto con la piel: Irritación leve de piel y mucosas.

Tras ingestión de grandes cantidades: Vómito, dolores de estómago, cefaleas, aturdimiento, descomposición, cianosis.

12.- Informaciones ecológicas

Biodegradabilidad:

Degradabilidad:

Fácilmente biodegradable (decremento: DOC= carbono orgánico disuelto >70%; DBO>60%

DBO5 respecto DQO>50%).

Comportamiento en compartimentos ecológicos:

Cifra de evaluación alemana (bacterias):<2

Cifra de evaluación alemana (peces):<2

Cifra de evaluación alemana (mamíferos):1

Efectos ecotóxicos:

Efectos biológicos: Efecto perjudicial para organismos acuáticos: reducida.

Toxicidad para los peces (*Leuciscus idus*): CL50:>10000 mg/l; CL100:>10000 mg/l

Toxicidad para las algas (*M. aeruginosa*): CE0:>2900 mg/l

(*Sc. quadricauda*): CE0>10000 mg/l

Toxicidad de bacterias (*Ps. putida*): CE0:>10000 mg/l

Organismos hidrológicos: CL50:>1000 mg/l/96 h

Otras observaciones ecológicas:

Manteniendo las condiciones adecuadas de manejo no deben esperarse problemas ecológicos. GLICERINA.FDS

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Glicerina RFE / Ph. Eur

13.- Consideraciones relativas a la eliminación

Producto:

En la Unión Europea no están regulados, por el momento, los criterios homogéneos para la eliminación de residuos químicos. Aquellos productos químicos, que resultan como residuos del uso cotidiano de los mismos, tienen en general, el carácter de residuos especiales. Su eliminación en los países comunitarios se encuentra regulada por leyes y disposiciones locales.

Le rogamos contacte con aquella entidad adecuada en cada caso (Administración Pública, o bien Empresa especializada en la eliminación de residuos), para informarse sobre su caso particular.

Envases:

Su eliminación debe realizarse de acuerdo con las disposiciones oficiales. Para los embalajes contaminados deben adoptarse las mismas medidas que para el producto contaminante. Los embalajes no contaminados se tratarán como residuos domésticos o como material reciclable.

14.- Información relativa al transporte

No sometido a las normas de transporte.

15.- Información Reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamenteo (CE) No. 1907/2006.

16.- Otras informaciones

Texto de códigos H y frases R mencionadas en la sección 2

Fecha de emisión: 02-11-99

Fecha de revisión: 13-01-09

Fecha de edición 2ª: 24-11-10

Los datos suministrados en esta ficha de seguridad se basan en nuestro actual conocimiento. Describen tan sólo las medidas de seguridad en el manejo de este producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo.

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Conforme al Reglamento (CE) N° 1907/2006 (REACH)

1.- Identificación de la sustancia o del preparado y de la sociedad o empresa

Identificación de la sustancia o del preparado

Denominación: Trietanolamina

Identificación de la sociedad o empresa: Acofarma Distribución S.A.

Llobregat, 20

08223-Terrassa. España.

Tel: 93 736 00 88 / Fax: 93 785 93 62

Teléfono de urgencias: Instituto Nacional de Toxicología. Madrid. Tel: 91 562 04 20

2.- Identificación de los peligros

Clasificación de la sustancia o mezcla

De acuerdo al Reglamento (EC) No1272/2008

Irritación ocular (Categoría 2)

De acuerdo con la Directiva Europea 67/548/CEE, y sus enmiendas.

Irrita los ojos.

Elementos de la etiqueta

Pictograma

Palabra de advertencia Atención

Indicación(es) de peligro

H319 Provoca irritación ocular grave.

Declaración(es) de prudencia

P305 + P351 + P338 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.

Símbolo(s) de peligrosidad

Xi Irritante

Frase(s) - R

R36 Irrita los ojos.

Frase(s) - S

S26 En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico.

Otros Peligros - ninguno(a)

3.- Composición/información sobre los componentes

CAS-Nº.: 102-71-6 EINECS.: 203-049-8

P.M: 149.19

Fórmula molecular: C6H15NO3 TRIETANOLAMINA.FDS.DOC Página 2 de 4

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Trietanolamina B.P.

4.- Primeros auxilios

En caso de ingestión, lavar la boca con agua si el sujeto está consciente. Llamar al médico.

En caso de contacto con la piel, enjuagar inmediatamente con abundantes cantidades de agua durante 15 minutos por lo menos, y quitar al mismo tiempo la ropa y calzado contaminados. Llamar al médico.

En caso de inhalación: Aire fresco. Si no respira administrar respiración artificial. Si la respiración es dificultosa administrar oxígeno.

En caso de contacto con los ojos, enjuagar con abundante agua manteniendo abiertos los párpados, al menos durante 15 minutos. Llamar al médico.

Lavar la ropa contaminada antes de volver a utilizarla.

5.- Medidas de lucha contra incendios

Medios de extinción adecuados:

Dióxido de carbono, polvo químico seco o espuma apropiada.

Procedimientos especiales para la lucha contra incendios:

Usar un aparato respiratorio autónomo y ropa protectora para evitar el contacto con la piel y los ojos.

Peligros de incendio y explosiones excepcionales:

Emite humos tóxicos en caso de incendio.

6.- Medidas a tomar en caso de vertido accidental

Evacuar la zona.

Usar un aparato respiratorio autónomo, botas de goma y guantes de goma fuertes. Absorber con arena o vermiculita, meter en una bolsa y conservar para su posterior eliminación.

Ventilar el local y lavar el lugar donde se haya derramado el producto una vez retirado por completo.

7.- Manipulación y almacenamiento

Consultar sección 8.

Información adicional:

Puede congelarse por debajo de 60°F. Descongelar y mezclar antes de usar.

8.- Controles de exposición/protección personal

Protección personal:

Usar sólo en cabina de humos química.

Ducha de seguridad y baño ocular.

Protección para la cara.

Lavarse las manos al finalizar el trabajo.

No respirar los vapores.

Evitar el contacto con ojos, piel y ropa.

Evitar exposiciones largas o repetidas.

Usar un aparato respirador adecuado, guantes resistentes a los productos químicos, gafas de seguridad y otras prendas protectoras.

Irritante.

Mantener herméticamente cerrado. TRIETANOLAMINA.FDS.DOC Página 3 de 4

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Trietanolamina B.P.

Almacenar en lugar fresco y seco.

9.- Propiedades físicas y químicas

Estado físico: Líquido viscoso

Color: Incoloro

Olor: Prácticamente inodoro

pH

(sol. acuosa 10%) 10.56

Punto de ebullición 190-193 °C

Punto de fusión 17.9-21 °C

Presión de vapor (20°C) 0.01mm

(205 °C) 10 mm

Punto de destello 185 °C

Limite de explosión bajo 1.3%

alto 8.5%

Temperatura de autoignición 315 °C

Densidad 5.14 g/cm³

Solubilidad

agua soluble

etanol soluble

10.- Estabilidad y reactividad

Incompatibilidades:

Agentes oxidantes.

Sensible a la luz.

Sensible al aire.

Evitar el contacto con ácidos.

Productos de descomposición peligrosos:

La descomposición térmica puede producir monóxido de carbono, dióxido de carbono y óxidos de nitrógeno.

11.- Información toxicológica

Toxicidad aguda:

DL50 (oral, rata): 4920 UI/kg

DL50 (intraperitoneal, rata): 1510 mg/kg

Informaciones adicionales sobre toxicidad:

Puede ser nocivo por inhalación, ingestión o por contacto con la piel.

Irrita los ojos y la piel.

Vapores o nieblas son irritantes para la mucosa de las membranas y el tracto respiratorio superior.

Causa irritación en la piel.

La exposición puede provocar:

Dermatitis. TRIETANOLAMINA.FDS.DOC Página 4 de 4

Ficha de Datos de Seguridad ACOFARMA

Denominación: Trietanolamina B.P.

Efectos crónicos:

Daños en el hígado.

Daños en los riñones.

12.- Informaciones ecológicas

Información no disponible.

13.- Consideraciones relativas a la eliminación

Desechos:

Disolver o mezclar el producto con un solvente combustible y quemarlo en un incinerador apto para productos químicos provisto de postquemador y lavador.

Observar todos los reglamentos estatales y locales sobre la protección del medio ambiente.

14.- Información relativa al transporte

Número ONU

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

Designación oficial de transporte de las Naciones Unidas

ADR/RID: Mercancía no peligrosa

IMDG: Not dangerous goods

IATA: Not dangerous goods

Clase(s) de peligro para el transporte

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

Grupo embalaje

ADR/RID: - IMDG: - IATA: -

Peligros para el medio ambiente

ADR/RID: no IMDG Marine pollutant: no IATA: no

Precauciones particulares para los usuarios

sin datos disponibles

15.- Información Reglamentaria

La hoja técnica de seguridad cumple con los requisitos de la Reglamento (CE) No. 1907/2006.

16.- Otras informaciones

Texto de códigos H y frases R mencionadas en la sección 2

Fecha de emisión: 13-12-99

Fecha de revisión: 08-06-09

Fecha de edición 2ª: 29-11-10

Los datos suministrados en esta ficha de seguridad se basan en nuestro actual conocimiento. Describen tan sólo las medidas de seguridad en el manejo de este producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo

 Fundación Universidad de América	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código: 6121964
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Mayo - 2017

AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL LUMIERES

Yo **Jessica Tatiana Dueñas Flórez** en calidad de titular de la obra Desarrollo de un producto bioactivo partiendo de extractos vegetales de especies Alto andinas elaborada en el año 2016 , autorizo al **Sistema de Bibliotecas de la Fundación Universidad América** para que incluya una copia, indexe y divulgue en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres, la obra mencionada con el fin de facilitar los procesos de visibilidad e impacto de la misma, conforme a los derechos patrimoniales que me corresponde y que incluyen: la reproducción, comunicación pública, distribución al público, transformación, en conformidad con la normatividad vigente sobre derechos de autor y derechos conexos (Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, entre otras).

Al respecto como Autor manifiesto conocer que:

- La autorización es de carácter no exclusiva y limitada, esto implica que la licencia tiene una vigencia, que no es perpetua y que el autor puede publicar o difundir su obra en cualquier otro medio, así como llevar a cabo cualquier tipo de acción sobre el documento.
- La autorización tendrá una vigencia de cinco años a partir del momento de la inclusión de la obra en el repositorio, prorrogable indefinidamente por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales del autor y podrá darse por terminada una vez el autor lo manifieste por escrito a la institución, con la salvedad de que la obra es difundida globalmente y cosechada por diferentes buscadores y/o repositorios en Internet, lo que no garantiza que la obra pueda ser retirada de manera inmediata de otros sistemas de información en los que se haya indexado, diferentes al Repositorio Digital Institucional – Lumieres de la Fundación Universidad América.
- La autorización de publicación comprende el formato original de la obra y todos los demás que se requiera, para su publicación en el repositorio. Igualmente, la autorización permite a la institución el cambio de soporte de la obra con fines de preservación (impreso, electrónico, digital, Internet, intranet, o cualquier otro formato conocido o por conocer).
- La autorización es gratuita y se renuncia a recibir cualquier remuneración por los usos de la obra, de acuerdo con la licencia establecida en esta autorización.
- Al firmar esta autorización, se manifiesta que la obra es original y no existe en ella ninguna violación a los derechos de autor de terceros. En caso de que el trabajo haya sido financiado por terceros, el o los autores asumen la responsabilidad del cumplimiento de los acuerdos establecidos sobre los derechos patrimoniales de la obra.
- Frente a cualquier reclamación por terceros, el o los autores serán los responsables. En ningún caso la responsabilidad será asumida por la Fundación Universidad de América.
- Con la autorización, la Universidad puede difundir la obra en índices, buscadores y otros sistemas de información que favorezcan su visibilidad.

Conforme a las condiciones anteriormente expuestas, como autor establezco las siguientes condiciones de uso de mi obra de acuerdo con la **licencia Creative Commons** que se señala a continuación:

	FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA	Código: 6121964
	PROCESO: GESTIÓN DE BIBLIOTECA	Versión 0
	Autorización para Publicación en el Repositorio Digital Institucional – Lumieres	Mayo - 2017

	Atribución- no comercial- sin derivar: permite distribuir, sin fines comerciales, sin obras derivadas, con reconocimiento del autor.	<input type="checkbox"/>
	Atribución – no comercial: permite distribuir, crear obras derivadas, sin fines comerciales con reconocimiento del autor.	<input checked="" type="checkbox"/>
	Atribución – no comercial – compartir igual: permite distribuir, modificar, crear obras derivadas, sin fines económicos, siempre y cuando las obras derivadas estén licenciadas de la misma forma.	<input type="checkbox"/>

Licencias completas: http://co.creativecommons.org/?page_id=13

Siempre y cuando se haga alusión de alguna parte o nota del trabajo, se debe tener en cuenta la correspondiente citación bibliográfica para darle crédito al trabajo y a su autor.

De igual forma como autor autorizo la consulta de los medios físicos del presente trabajo de grado así:

AUTORIZO	SI	NO
La consulta física (sólo en las instalaciones de la Biblioteca) del CD-ROM y/o Impreso	X	
La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer para efectos de preservación	X	

Información Confidencial: este Trabajo de Grado contiene información privilegiada, estratégica o secreta o se ha pedido su confidencialidad por parte del tercero, sobre quien se desarrolló la investigación. En caso afirmativo expresamente indicaré, en carta adjunta, tal situación con el fin de que se respete la restricción de acceso.	SI	NO
		X

Para constancia se firma el presente documento en Bogotá D.C., a los 9 días del mes de mayo del año 2017.

EL AUTOR:

Autor 1

Nombres	Apellidos
Jessica Tatiana	Dueñas Flórez
Documento de identificación No	Firma
1024563716	