

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*”

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico

TESISTAS

CORREA BAZÁN ADELI ALICIA
NOÉ ZAPATA PATRICIA JANNET

ASESOR: CHIRE MURILLO, TEÓFILO

Lima – Perú
2019

DEDICATORIA

A Dios por ser mi guía perfecta en cada paso que doy y por todas sus
Bendiciones.

A mi amada hija Lindalí por su apoyo y como símbolo de dedicación y esfuerzo.

A mi madre por el amor y el apoyo constante desde mis inicios hasta hoy y que
me han permitido llegar hasta aquí.

A mi esposo por brindarme la oportunidad de seguir creciendo
profesionalmente y por su apoyo incondicional.

A mis hermanos por ser ejemplo a seguir.

A mis Abuelitos y tío, por inculcarme sus consejos, incentivándome en la lucha
por salir adelante.

Correa Bazán Adeli

A Dios porque está en cada paso que doy, por permitirme llegar hasta este
momento importante de mi formación profesional.

A mis padres que han sido pilares fundamentales en mi vida por su apoyo
incondicional, consejos y ánimo constante, me han dado todo lo que soy como
persona.

A mis hermanos quienes con sus palabras de aliento día a día no me dejan
decaer y cumplir con mis ideales.

Noé Zapata Patricia

AGRADECIMIENTO

Agradecer de manera especial al Q.F. Teófilo Chire Murillo, Q.F. profesor de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por habernos apoyado y orientado en la culminación de nuestra tesis.

Asimismo, darle las gracias al Dr. Neuman Pineda Pérez por la continua orientación en las instalaciones de los equipos y laboratorios de la facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica para llevar a cabo la parte experimental de nuestro proyecto.

De igual manera a la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por habernos permitido formarnos con todos los copiosos conocimientos que nos han otorgado durante la época de enseñanza universitaria.

Por ultimo deseamos agradecer el reconocimiento a todo el personal docente involucrado en nuestras enseñanzas impartidas y habernos formado como profesionales y a las personas que fueron participes de este trabajo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	3
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	3
1.2 Formulación del problema.....	4
1.2.1 Problema general	4
1.2.2 Problemas específicos	4
1.3 Objetivos de la investigación.....	5
1.3.1 Objetivo general	5
1.3.2 Objetivos específicos	5
1.4 Justificación e importancia del estudio	5
Limitación de la investigación	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 Antecedentes del Estudio.....	8
2.1.1 Nacionales.....	8
2.1.2 Internacionales.....	10
Descripción general de la planta.....	14
• Extractos	22
• Staphylococcus aureus	28
• Ciprofloxacino	33
2.3 Hipótesis	39
2.3.1 Hipótesis general.....	39
2.3.2 Hipótesis específicas.....	39
2.4 Variables	39
2.5 Marco Conceptual	40
3.1 Tipo de Estudio	41
3.2 Diseño a utilizar.....	41
3.3 Población	41
3.4 Muestra	42
3.5 Técnicas e Instrumento de recolección de datos	42
3.6 Procesamiento de datos.....	42
Procedimiento Experimental	43

•	Recolección de la muestra vegetal.....	43
•	Identificación de la muestra de estudio.	43
•	Obtención del aceite esencial.....	43
•	Determinación de metabolitos secundarios del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> (Moringa)	44
➤	Prueba de solubilidad.....	47
➤	Procedimiento Experimental de la Actividad Antimicrobiana.....	47
4.1	Presentación de los Resultados	54
4.2	Contrastación de hipótesis	57
4.3	Discusión de los Resultados	62
CAPÍTULO V:.....		64
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		64
5.1	Conclusiones.....	64
5.2	Recomendaciones.....	65
Referencias		66
Anexo N° 1: Certificado Botánico de la Planta de <i>Moringa oleífera</i>		71
Anexo N° 2: Certificado Microbiológico de la Bacteria		72
Anexo N° 3: Certificado de Conformidad de las placas Petri		73
Anexo N° 4: Certificado del Agar		74
Anexo N° 5: Certificado del Ciprofloxacino		75
Anexo N° 6: Obtención de la Muestra Biológica		76
Anexo N° 7: Obtención del Aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i>		79
Anexo N° 8: Prueba de Solubilidad.....		80
Anexo N° 9: Marcha Fitoquímica		81
Anexo N° 10: Actividad Antibacteriana		82
Anexo N° 11: Juicio de expertos.....		86
Anexo N° 11: Matriz de Consistencia		91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1:	Valores nutricionales de la <i>Moringa oleífera</i> (Moringa)	20
Tabla N° 2:	Manifestaciones Clínicas del <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Tabla N° 3:	Clase de antimicrobianos	35
Tabla N° 4:	Operacionalización de variables	36
Tabla N° 5:	Diseño experimental	50
Tabla N° 6:	Prueba de Solubilidad del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> (Moringa)	52
Tabla N° 7:	Marcha fitoquímica	53
Tabla N° 8:	Resultado de la medición de los halos del aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i> (Moringa)	54
Tabla N° 9:	Diferencias de muestra	58
Tabla N° 10:	Análisis de varianza	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Hojas de <i>Moringa oleífera</i>	17
Figura N° 2: Árbol de <i>Moringa oleífera</i>	19
Figura N° 3: Flavonoide presente en la <i>Moringa oleífera</i> (Hesperidina)	22
Figura N° 4: Aceite esencial presente en la <i>Moringa oleífera</i> (kaempferol-3-O-(6-malonil-glucósido)	26
Figura N° 5 Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del Agar.....	47
Figura N° 6: Gráfica de la Prueba de Solubilidad	52
Figura N° 7: Gráfica de los porcentajes de Inhibición.....	55
Figura N° 8: Gráfica de probabilidad de conc. 25%, conc. 50%, conc. 75%	57
Figura N° 9: Gráfica de Fischer para 50% y 75% comparado con Ciprofloxacino.....	60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1: Certificado Botánico de la Planta de <i>Moringa oleífera</i>	68
Anexo N° 2: Certificado Microbiológico de la Bacteria	69
Anexo N° 3: Certificado de conformidad de las placas Petri	70
Anexo N° 4: Certificado del Agar.....	71
Anexo N° 5: Certificado del Ciprofloxacino.....	72
Anexo N° 6: Obtención de la muestra de la <i>Moringa oleífera</i> (Moringa)	73
Anexo N° 7: Obtención del Aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i>	76
Anexo N° 8: Prueba de Solubilidad	77
Anexo N° 9: Marcha Fitoquímica.....	78
Anexo N° 10: Actividad Antimicrobiana	79
Anexo N° 11: Juicio de expertos	83
Anexo N° 12: Matriz de Consistencia.....	88

RESUMEN

En esta investigación se evaluó el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa). Se utilizó el método de difusión en disco también llamado método Kirby-Bauer. Se usaron 30 placas conteniendo agar no selectivo Müller-Hinton en las cuales se sembró previamente cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Se evaluaron 3 grupos: Dimetil sulfóxido, Ciprofloxacino 5 µg y Aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) a concentraciones de 25%, 50% y 75% (control negativo, control positivo, muestra). El tamizaje fitoquímico se realizó con el aceite esencial al 100% de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa). Los resultados obtenidos muestran que el aceite esencial de *Moringa oleífera* (Moringa), posee los siguientes metabolitos secundarios: Flavonoides, alcaloides y taninos. El aceite presentó efecto antimicrobiano a concentraciones de 50% y 75% con un porcentaje de inhibición de 61.3% y 69.6% respectivamente en comparación con el Ciprofloxacino, habiendo diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el aceite esencial en toda sus concentraciones y el control positivo usado. Se concluye que el aceite al 50% y al 75% presenta efecto antimicrobiano.

Palabras clave: *Moringa oleífera* (Moringa), efecto antimicrobiano, *Staphylococcus aureus*, aceite esencial.

ABSTRACT

In is research. The in vitro antimicrobial effect of the essential oil of *Moringa oleífera* (Moringa) leaves was evaluated. Using the disc diffusion method, also called the Kirby-Bauer method. We used 30 plates containing non-selective Müller-Hinton agar, in which strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 have been previously planted. Three groups were evaluated: Dimethyl sulfoxide, Ciprofloxacin 5 µp and Essential oil of the leaves of *Moringa oleífera* (Moringa)for the purposes of 25%, 50% and 75% (negative control, positive control, and sample). The phytochemical screening was performed with the essential oil to 100% of the leaves of *Moringa oleífera* (Moringa). The results show that the essential oil of *Moringa oleífera* (Moringa). It has the following secondary metabolites: flavonoids, alkaloids, tannins. The antimicrobial result of the essential oil of *oleífera Moringa* leaves. 50% and 75% with a percentage of inhibition of 61.3% and 69.3% respectively compared to Ciprofloxacin, there being significant difference ($p < 0.05$) between the essential oil in all its content and the control positive used. It was concluded that the presence of this variety of secondary metabolites was also responsible for the antimicrobial effect. The essential oil of the leaves of *Moringa oleífera* (Moringa).

Key words: *Moringa oleífera* (Moringa) microbial effect, *Staphylococcus aureus*, essential oil.

INTRODUCCIÓN

No es hasta el siglo XVII que se conocen las propiedades medicinales de las plantas, el efecto que ejercen sobre el organismo y su modo de empleo, desconociendo en la mayoría de los casos los metabolitos que originaban dicha actividad. Con el desarrollo de ciencias como la fitoquímica, fue posible la identificación de dichos metabolitos de muchas especies vegetales. La mayoría de los metabolitos se lograron obtener de manera sintética en laboratorios, para su posterior empleo en la fabricación de medicamentos comercializados en la actualidad. Con el transcurrir de los años estos medicamentos desplazaron el uso de las plantas medicinales relegando así a la medicina tradicional. ⁽¹⁾

El Perú es un país rico en biodiversidad de plantas medicinales, lo que originó que se cultive estas plantas desde épocas ancestrales para el tratamiento de enfermedades a lo que llamamos en la actualidad medicina tradicional, lo cual abarca dentro de su campo de aplicación el uso de animales y minerales.

Por esta razón en los últimos años, ha tomado mayor importancia su estudio e identificación de los metabolitos contenidos en especies vegetales, ya que su uso como complemento o alternativa a tratamientos convencionales para la cura de enfermedades, siendo la población ubicada en zonas alejadas o rurales la de mayor uso de la medicina tradicional debido al acceso limitado a los medicamentos, así mismo el tratamiento de enfermedades provocadas por bacterias son de tratamiento complejo.

Los organismos de salud en los últimos años han reportado el incremento de microorganismos resistentes a los tratamientos, entre ellos se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Micobacterium tuberculosis*, debido a esto se requiere la búsqueda de alternativas terapéuticas en el campo farmacológico. ⁽²⁾

Con base a lo antes descrito y en aras de buscar alternativas para el tratamiento de estas enfermedades, esta investigación planteo evaluar la actividad antimicrobiana del aceite esencial a partir de las hojas de ***Moringa oleífera*** (Moringa), frente a *Staphylococcus aureus* utilizando la técnica de macro difusión, para determinar cuál de las concentraciones del aceite esencial presenta mayor actividad antimicrobiana. ⁽³⁾

CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Descripción de la realidad problemática

El Perú posee una diversidad de plantas medicinales por el cual es importante evaluar sus efectos terapéuticos, en la costa, sierra y selva. Existen vegetales que contienen sustancias de valor medicinal aún por descubrir, variedades de plantas por analizar con posibles efectos farmacológicos que son de gran importancia para nuestra sociedad.

Los antibióticos son fármacos que al ser administrados a diferentes concentraciones van a destruir a los gérmenes causantes de enfermedades. Sin embargo, el uso indiscriminado de antibióticos genera algunas veces resistencia bacteriana ocasionando infecciones que son más difíciles de tratar. Esta resistencia hace que se incrementen los costos médicos, así como también las estancias en los centros médicos y aumente la mortalidad. ⁽⁴⁾.

La denominada resistencia a los antibióticos constituye en un problema que va en aumento en todo el mundo, poniendo en peligro la capacidad de tratar infecciones comunes, así como la neumonía, la tuberculosis, la septicemia, la gonorrea o infecciones alimentarias; esto hace más difícil el tratamiento a medida que los antibióticos van perdiendo eficacia ⁽⁴⁾.

La Organización Mundial de la salud (OMS) en el año 2017 publicó una lista de patógenos prioritarios resistentes a antibióticos en las que están incluidas como prioridad 2 (elevada) a *Staphylococcus aureus*.

Moringa oleífera (Moringa) es utilizado de forma tradicional para numerosos padecimientos a nivel gástrico, calmando el ardor del estómago e incluso regula el estreñimiento; por su alto contenido de vitamina C y su poder antioxidante posee acción antidiabética ayudando a reducir los niveles de azúcar en sangre de personas con diabetes II ⁽²⁾;

es por esto la búsqueda por resaltar sus beneficios encontramos que existe posibilidades de emplearla como antibacteriano, no para competir con el mercado farmacéutico, sino para ser una alternativa de tratamiento en las poblaciones más necesitadas y apartadas de los servicios básicos de salud.

Por tanto, los resultados de esta investigación servirán como una opción para el tratamiento de ciertas enfermedades tales como: gastritis, procesos asmáticos, estreñimiento y anemia.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cuál será el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Qué metabolitos secundarios están presentes en el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa)?

2. ¿Qué concentración del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) presenta efecto antimicrobiano frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*?

3. ¿Cuál es el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) comparado con el fármaco Ciprofloxacino?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Determinar cuál será el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa).
2. Determinar la concentración del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) que tendrá efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.
3. Comparar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) con el efecto del fármaco Ciprofloxacino.

1.4 Justificación e importancia del estudio

Los problemas que generan mayor preocupación en el área de la salud en la actualidad es la poca accesibilidad que tienen las comunidades aisladas de los centros hospitalarios, el poco compromiso de parte del ministerio de salud por llevar salud a todos los lugares más alejados de nuestro país, la necesidad de contar con la farmacia comunitaria para llevar información del uso racional del medicamento y poder evitar la automedicación.

Un punto álgido es la automedicación y también el uso irracional de plantas medicinales sin ningún concepto de cómo saber tomarlo, tan solo por experiencias de generación en generación.

Un estudio racional de investigación para saber que plantas son las más efectivas para infecciones abre las esperanzas de una dosis y medicación responsable, es por eso que para combatir estos problemas que aquejan a la población, se realizó la presente investigación, la cual busca conocer si el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (moringa), tiene acción antimicrobiana y de esta manera saber que proporciona una terapia eficaz, segura, accesible, de fácil y rápida administración.

Limitación de la investigación

En el proceso de desarrollo de la investigación, se presentaron algunas limitaciones tales como la obtención de la cepa de estudio, la forma de conservación y la correcta manipulación, ya que podía producirse contaminación cruzada, esta limitación fue levantada gracias a la acertada capacitación de nuestro asesor, quien nos brindó la información para manejar de forma adecuada la cepa.

Asimismo, se tuvo también limitantes en la adquisición de reactivos fiscalizados utilizados en la ejecución de la marcha fitoquímica, esta limitación fue solucionada también con nuestro asesor quien nos proporcionó algunos reactivos para la parte analítica y experimental.

Para realizar las actividades experimentales se tuvo acceso al laboratorio de farmacognosia y química instrumental de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega y en el laboratorio de farmacología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del Estudio

2.1.1 Nacionales

Chero V. (2018) ⁽⁵⁾. En su investigación titulada Comparación del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanólico de hojas de moringa oleífera sobre streptococcus mutans atcc 35668.

Para dicho estudio se evaluaron 6 grupos en concentraciones de 76 mg/mL, 38 mg/mL y 19 mg/mL para cada tipo de extracto. Para evaluar la sensibilidad bacteriana se realizó mediante el método de difusión en pozo. La muestra bacteriana fue reactivada en caldo nutritivo, los resultados obtenidos mostraron halos promedios de inhibición de 17,96 y 15,27 mm para las concentraciones de 76 mg/ml y 38mg/ml; mientras que, los extractos acuosos no presentaron halos de inhibición. El resultado de este estudio determinó que los extractos hidroetanólicos de 76mg/ml y 38mg/ml tienen efecto antibacteriano sobre S. mutans ATCC 35668.

Cáceres R. (2018) ⁽⁶⁾.

Realizó una investigación titulada Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de las hojas de Moringa oleífera “moringa” comparado con ciprofloxacino a 5 µg, sobre cepas de Escherichia coli ATCC 25922. Para el desarrollo de esta investigación se usaron cuatro diluciones (100%,75%, 50% y 25%), un control positivo con ciprofloxacino (5 µg), y un control neutro con DMSO; la actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método Kirby-Bauer. Los resultados evidenciaron que el extracto etanólico de las hojas Moringa oleífera muestra halos de inhibición a partir de la dilución al 75% con 13.90, al 100% el halo de inhibición fue de 17.70 mm, sin embargo, estos valores no superan el halo de inhibición del medicamento: ciprofloxacino 29.70mm. El resultado de este estudio determinó que el extracto etanólico de las

hojas de *Moringa oleífera* si posee efecto antimicrobiano sobre *Escherichia coli* ATCC 25922.

Rodríguez K. (2017) ⁽⁷⁾. en su trabajo de investigación titulado “Comparación del efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* (Moringa) frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre *Escherichia coli* ATCC6538” para el desarrollo de este estudio utilizó la técnica de difusión por disco de Kirby Bauer. La información fue realizada por medio de frecuencias, estadístico y correlación de Pearson, obteniéndose 56,70% de sensibilidad para la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* (Moringa) y presentando un 96,7% de sensibilidad para Gentamicina y Nitrofurantoína, siendo resistente sobre la bacteria *Escherichia coli*.

La conclusión de este estudio presenta diferencias significativas con la acción bactericida de Gentamicina y nitrofurantoína.

Arévalo O. (2017) ⁽⁸⁾. Realizó una investigación donde se indicó el efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos a base de *Moringa oleífera* (Moringa) y *Azadirachta indica* (neem) sobre cepas de *Enterococcus faecalis*, el objetivo se fundamentó en la evaluación in vitro del efecto citotóxico y antibacteriano. Se ejecutó la técnica de difusión en agar para el sembrado de los extractos y se usó la concentración mínima inhibitoria (CMI) se resolvió por el método de micro dilución y la citotoxicidad empleando la línea celular MDCK, luego se preparó el sistema para poder determinar la actividad antibacteriana, se pudo observar que el extracto de *Moringa oleífera* (Moringa) logro mayor efecto antibacteriano en 24 y 48 horas frente al *Enterococcus faecalis*, consiguiendo un halo de 34.5 ± 1.06 y 45.83 ± 0.97 , La CMI para ambos extractos fue de 75 $\mu\text{g/ml}$. El resultado bactericida para el extracto de *Azadirachta* señala que fue a concentración de 25 $\mu\text{g/mL}$ y para el extracto de *Moringa oleífera* fue de 75 $\mu\text{g/mL}$. Los resultados probaron que los extractos evaluados tienen efecto antimicrobiano en de *Enterococcus faecalis* a las 25 y 49 horas.

2.1.2 Internacionales

Castro F. Y Parra B. (2019) ⁽⁹⁾. Realizaron una tesis titulada “Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos de Diclorometano y Cloroformo de la hoja y semilla de *Moringa oleífera* (Moringa) en cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Cándida albicans*” esta investigación tuvo como finalidad, evaluar la actividad antimicrobiana de los extractos halogenados a partir de las hojas y semillas de *Moringa oleífera* (Moringa) en concentraciones de 25%, 50%, 75% Y 100% sobre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Cándida albicans*, para determinar el tamaño de los halos de inhibición se utilizó la técnica de Kirby Bauer. Los extractos fueron obtenidos por maceración, usando como disolventes el Diclorometano y Cloroformo.

El resultado de este estudio determinó que los extractos de hojas poseen actividad antimicrobiana para las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Cándida albicans* en las diferentes concentraciones utilizadas.

Castañeda V. (2019) ⁽¹⁰⁾. En su estudio titulado Evaluación in vitro de la capacidad antimicrobiana de los aceites esenciales de Moringa (*Moringa oleífera Lam.*) y Altamisa (*Ambrosia arborescens Mill.*) frente a la bacteria *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70693. La finalidad de esta investigación es valorar el efecto antimicrobiano de los aceites esenciales sobre *klebsiella pneumoniae* ATCC 70693, mediante dos métodos: la microdilución con el fin de determinar del CMI y el método de discos a diferentes concentraciones de 5%, 35%, 75% y 100%; usando como control positivo amoxicilina/ácido clavulánico y como negativo agua destilada y DMSO. Obteniéndose para el AEA mayor halo de inhibición AL 100% con 20,7mm y con respecto a la moringa a la misma concentración con 7mm; con respecto al segundo método, la macrodilución, se efectuó en microplacas de 96 pocillos en diferentes concentraciones; obteniéndose el CMI para el aceite esencial de Moringa 3% y para el aceite esencial de altamisa 1,5%.

El resultado de esta investigación determinó que los dos aceites esenciales si presentan actividad antimicrobiana frente al microorganismo *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70693.

Álvarez A. (2017) ⁽¹¹⁾. Su investigación tuvo objetivo principal evaluar el valor nutricional y la cuantificación de nutrientes de *Moringa oleífera*. Para ello se usó polvo de hojas secas y de semillas de moringa, para contrastar estos índices con otras investigaciones y comprender las propiedades beneficiosas para la salud. Asimismo, se busca desmentir información falsa. El calcio que se encontró fue mayor que el de la leche de vaca, sin embargo, deberse tomarse en cuenta la presencia de factores anti nutricionales que reducen su biodisponibilidad. Se identificó un cambio en datos encontrados con los de otros estudios, que se atañe a los factores genéticos de los vegetales, suelos y ambiente, sin embargo, estuvieron en una condición admisible. De otro lado, se corroboró, a través de investigaciones que, la dosis de consumo de polvo de hojas secas y semilla de moringa es crucial para contrarrestar la desnutrición, impedir el crecimiento de células cancerosas, prevenir la aterosclerosis, etc.

Salcedo M. (2017) ⁽¹²⁾. Realizó una investigación, titulada “Efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleífera* (Moringa) en concentraciones de 25 %, 50%, 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro”. La finalidad de esta investigación fue determinar el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa* (*Moringa oleífera*) sobre *Streptococcus mutans*. Para lograr el extracto de moringa se utilizó el método de percolación. Para determinar la evaluación antimicrobiana fue necesario el uso del método Kirby-Bauer. El resultado de este estudio fue el siguiente: las concentraciones al 75 y 100% tuvieron efecto inhibitorio in vitro frente a *Streptococcus mutans*. No obstante, la clorhexidina al 0.12% evidenció mayor efecto inhibitorio *in vitro* que las concentraciones de extracto hidroalcohólico de hojas de *Moringa oleífera* en los grupos de estudio evaluados.

Andrade M. (2017) ⁽¹³⁾. “Formulación y aceptabilidad de tostadas tipo nacho a base de maíz con Moringa (*moringa oleífera lam*)”. El objetivo de esta investigación fue crear un aperitivo en forma de tostadas horneadas tipo nacho a base de maíz con Moringa, para la determinación de formulaciones se realizaron diferentes pruebas con modificación en las proporciones de los ingredientes, posteriormente se procedió a evaluar la aceptabilidad del mismo mediante una escala hedónica de expresiones faciales, dirigida a niños de educación primaria; quienes dieron a conocer la percepción de sabor, color y tostado del producto. En la prueba de aceptabilidad, las formulaciones presentaron diferencia significativa en dos aspectos, tales como color y sabor, el aperitivo con 5% de sustitución de moringa fue el más aceptado, a éste se le determinó el valor nutricional por medio de análisis proximal. Entre los resultados se descubrió que 30 g del aperitivo aporta 117 kcal, 10.9 g de proteínas, y que no representa una fuente significativa de grasa y sodio. De acuerdo a la evaluación de la calidad proteica que se realizó por medio de puntaje químico corregido por digestibilidad, se observó que la mezcla de maíz con moringa con mayor aceptabilidad tuvo un puntaje químico del 61%, siendo la Lisina el aminoácido limitante, el análisis proximal demostró que el aporte de proteínas es mayor en comparación con un aperitivo de maíz convencional.

Pérez M. Cabrera L. (2015) ⁽¹⁴⁾. Realizaron una tesis, titulada “Actividad antibacteriana in vitro de extractos acuoso de *Moringa oleífera* sobre especies patógenas intrahospitalarias 2015”. Se utilizaron extractos acuosos, obtenido por medio de la cocción a 50°C por 30 min, de 25g de hojas y de semillas, en 50mL de agua destilada. Para determinar el efecto inhibitorio se empleó la técnica de difusión en agar nutriente, incubados a 37°C por 24 horas. Dando como resultado que ambas especies bacterianas fueron afectadas en su crecimiento

por efecto de extractos de semillas (rango de halos entre 1,0-5,0 mm). Los resultados comprobaron halos de inhibición de 3 mm para extractos de hojas y 5 mm para extractos de semillas para las cepas de *S. aureus* y halos de 1 y 2 mm de inhibición para extracto de semillas, por parte de cepas de *E. coli*. Conclusión: los extractos de *Moringa oleífera* muestran actividad antibacteriana contra dichas especies patógenas.

Cabrera J. (2014) ⁽¹⁵⁾. Llevaron a cabo el estudio, que lleva como título “Evaluación del contenido de alcaloides, flavonoides, taninos y aceites esenciales en tres estados de maduración y recolección de la *Moringa oleífera* (Moringa). Para establecer la concentración de los principales metabolitos secundarios en Moringa se empleó métodos espectrofotométricos. Los resultados conseguidos de fenoles y taninos están comprendidos entre 19,27–7,36 mg/g y 4,43–0,71 mg/g, respectivamente; para flavonoides se obtuvieron valores comprendidos entre 34,85 – 11,83 mg/g y para alcaloides, valores comprendidos entre 0,77-0,58mg/g. Las variaciones de las concentraciones dependieron significativamente ($p < 0.001$) de las alturas y estados de maduración de la planta, las mayores concentraciones a la edad de quince meses y a la altura de 2,5 a 5,5 metros de la planta.

Mahamadou N. (2014) ⁽¹⁶⁾. “Propiedades fungicidas de semillas de *Moringa oleífera* frente *Rhizoctonia solani* y *Stemphylium solani*, bactericida contra *Escherichia coli* y aglutinantes contra coliformes totales”. El objetivo de esta investigación es estudiar las propiedades fungicidas de semillas de *Moringa oleífera* frente *Rhizoctonia solani* y *Stemphylium solani*, bactericida contra *Escherichia coli* y aglutinantes contra coliformes totales. La acción fungicida de semillas de *M. oleífera* fue cerciorada en el test de inhibición del crecimiento de hifas y/o micelios por la técnica de difusión en agar. La propiedad bactericida fue verificada mediante el ensayo de susceptibilidad, el cual se ejecutó por el método de difusión por disco. Se llevó a cabo un aislamiento de los microorganismos más representativos presentes en la muestra de agua residual. La capacidad floculante y aglutinante de semillas maceradas

y extracto acuoso, respectivamente, se constató frente a coliformes totales. El extracto acuoso de semillas de *M. oleífera* no tuvo inhibición de crecimiento del hongo *R. solani* pero si tuvo inhibición frente a *S. solani*. La prueba de susceptibilidad señaló que la cepa de *E. Coli* es más susceptible con las diluciones pura y 1/2. Se aislaron y caracterizaron cuatro tipos diferentes bacterias en el agua residual y se comprobó que las semillas maceradas de *M. oleífera* poseen propiedades floculantes producto de su capacidad de adsorción y neutralización de microorganismos. El extracto acuoso de *M. oleífera* cercioró una fuerte aglutinación frente a dos de las cepas y una aglutinación normal frente a las otras dos cepas.

2.2 Bases teóricas

Descripción general de la planta

- **Moringa oleífera**

La especie *Moringa oleífera* (Moringa) es la planta más popular dentro del género Moringa. Esta planta proviene de la zona sur del Himalaya, Afganistán, Pakistán y el norte de la India. Tiene otras denominaciones como: jazmín francés, acacia y otros. La *Moringa oleífera* sobresale por sus diversas utilidades, así como su rápida instalación a las condiciones ambientales y esto facilita el consumo constante ⁽¹⁷⁾.

La *Moringa oleífera* (Moringa) tiene una alta plasticidad ecológica, es decir, se acomoda fácilmente al tiempo meteorológico y los elementos ambientales. Debido a su alto contenido de nutrientes, este es un gran recurso Fito genético. Asimismo, la *Moringa oleífera* es empleada para abono, cerca viva, para la generación del etanol y otros. Por ello, es muy utilizada. ⁽¹⁷⁾

- **Antecedentes históricos de la Moringa**

Desde tiempos ancestrales el uso de la Moringa es muy difundido, las primeras escrituras sobre el uso de esta planta se remontan a 150 años A.C. En la antigüedad los reyes y reinas lo utilizaron para la elaboración de dietas para cuidar la piel y el estado mental. La *Moringa oleífera* es usada, en diversas modalidades, en más de ochenta estados.

Desde la antigüedad, la *Moringa oleífera* fue considerada como una planta con propiedades medicinales. Desde hace 150 años A.C., los escritores hindúes describieron las utilidades de la *Moringa oleífera*. Incluso, el libro bíblico, hace alusión a esta planta como un purificador del Mar Rojo.

En el siglo XIX, a partir de plantaciones de moringa en el Caribe, se exportaron hacia Europa, el aceite de esta planta, para la elaboración de perfumes y lubricantes para maquinaria. La Moringa ha sido reconocida en varias sociedades y la creencia de sus múltiples usos en la medicina alternativa viene de miles de años. La Moringa constituye uno de los descubrimientos más recientes de la ciencia moderna. La *Moringa oleífera* se introdujo en América Latina y Centroamérica en 1920 como un árbol ornamental. ⁽¹⁸⁾

- **Taxonomía (Uzochukwu, 2012).**

Reino: Plantae

Sub-reino: Tracheobionta

Súper división: Spermatophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Dilleniidae

Orden: Capparales

Familia: Moringaceae

Género: *Moringa*

Especie: *Oleífera* lam.

Origen: Naturalizada

A la *Moringa oleífera*, también es conocida como: paraíso blanco, acacia, árbol de las perlas, chinto borrego, flor de Jacinto, paraíso de España, perlas de oriente, libertad, árbol de mostaza, árbol de rábano picante, maringacalalu, marango, marengo, carango, palo jeringa, jazmín marengo, tamarindo cimarrón (Alfaro, 2008)



Figura N° 1: Hojas de *Moringa oleífera*

Fuente: Uzochukwu, 2012

- **Localización demográfica**

El árbol de la *Moringa oleífera* proviene de la zona sur de Himalaya, Pakistán y del norte de la India. Este se instaló en varios lugares de India, Bangladesh, Afganistán, Pakistán, Sri Lanka, el Sureste (SE) asiático, Asia occidental, la Península Arábiga, África del Este (E) y del Oeste (W), Madagascar, el sur de la Florida, las Islas del Caribe y América del Sur, desde México a Perú, Paraguay y Brasil. (Liñán, 2010).⁽¹⁷⁾

- **Descripción de la Moringa**

Arbusto frondoso de tamaño pequeño, que regularmente no alcanza una altura de 10 metros. Su corteza es blanquecina, de tronco es deforme, espeso y con corona pesada y pequeña. Sus hojas miden aproximadamente 20 cm, estas poseen hojuelas de 1 a 2 centímetros de largo y de coloración verdosa. De otro lado, sus flores tienen una coloración crema, estas miden hasta 1.5 cm. de largo. Así mismo, su fruto cuenta con tres lígulas triangulares y lineales, con forma de vaina de hasta 45 cm. de largo y 2 cm. de espesor. Sus semillas carnosas protegidas por una cáscara café. La raíz es larga y carnosa parecido a un rábano. ⁽¹⁹⁾

A pesar de que la Moringa es fácil de diferenciar, su nombre científico resulta confuso. A la Moringa oleífera se le atribuyó la denominación de *Guilandina moringa* (1753), y también *Hyperanthera moringa* (L.) Vahl., muy utilizado, en la actualidad, por los autores. La designación de *Moringa pterygosperma* Gaertn. (p.ej. Morton, 1991) es una nominación errónea de acuerdo con las reglas de nomenclatura botánica. Además, estas reglas señalan que *G. moringa* y *H. moringa* no tienen validez, mientras *Moringa oleífera* sí la tiene. ⁽¹⁹⁾

- **Condiciones del cultivo**

La *Moringa oleífera* tiene la cualidad de poder desarrollarse bajo complicadas situaciones climáticas y ambientales, característica de suelos cálidos con precipitaciones de 250-300 m³ de lluvia al año. No obstante, pueden crecer en suelos soleados de hasta 500 msnm. Es decir, esta planta tiene rápida adaptación a tierras secas, áridas, húmedas y pesadas, no obstante, en este último su crecimiento es menor, en comparación con las tierras bajas. Cabe destacar que, el suelo debe contar con un óptimo drenaje, ya que no tolera el encharcamiento. ⁽¹⁷⁾



Figura N° 2: Árbol de *Moringa oleífera*

Fuente: Alfaro, 2008

- **Valor Nutricional de la *Moringa oleífera* (Moringa)**

Las hojas de la *Moringa oleífera* poseen propiedades nutritivas, consideradas como las más resaltante entre los vegetales. Sus hojas cuentan con el 27% de proteínas, asimismo cuenta con un alto porcentaje de minerales como hierro, calcio y fósforo, así como las vitaminas C y A. Esta planta resulta muy útil en zonas de sequía, ya que puede cosecharse las hojas en temporadas secas (Folkard y Sutherland, 1996).

Se han desarrollado análisis *in vitro* e *in vivo*, los cuales han determinado que los taninos y saponinas, son casi despreciables y no se identificaron inhibidores de tripsina ni de lectina. Con respecto a la materia seca, esta tiene 10% de azúcares (Foidl, 2003).⁽²¹⁾ La *Moringa oleífera* (Moringa) se destaca por sus bondades nutricionales y es considerada como uno de los mejores vegetales constantes.⁽²⁰⁾

Tabla N° 1: Valores nutricionales de la *Moringa oleífera*
(100 gramos de hojas secas)

NUTRIENTES	VALOR DE MORINGA
Vitamina A (mg)	1130
Vitamina C (mg)	220
Calcio (mg)	440
Potasio (mg)	259
Proteínas (mg)	6700

Fuente: Elaboración por los investigadores

- **Uso Farmacológico bacteriano de la *Moringa Oleífera* (Moringa)**

Siguen en estudio las propiedades farmacológicas de la *Moringa oleífera* (Moringa), sin embargo, numerosos estudios con las plantas autóctonas de la región demostraron que posee propiedades antimicrobianas frente a una amplia gama de patógenos como *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* por extractos acuosos de las hojas, fue comprobado por científicos guatemaltecos (Cáceres et al., 1991).

De otro lado, se demostró la actividad antifúngica de aceites esenciales de las hojas y de extractos alcohólicos de las semillas y las hojas contra dermatofitos como *Trichophyton rubrum* y *Trichophyton mentagrophytes*. Asimismo, se identificó 44 componentes de los aceites esenciales de las hojas empleados en posibles medicamentos para contrarrestar las enfermedades cutáneas comunes de los lugares tropicales. Además, investigaciones bacteriológicas afirmaron la actividad antimicrobiana producida en los extractos de semillas de moringa, los mismos que flocculan bacterias Gram positivas y Gram negativas. ⁽²²⁾

La acción bacteriostática está conformada por la disrupción de la membrana celular, producto de la inhibición de enzimas primordiales. El elemento causante de esta actividad es el 4-(4'-O-acetil- α -L-ramnopiranosiloxi)-isotiocionato de bencilo, ya que posee una acción

bactericida en varias especies patógenas, conteniendo aislados de *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Legionella* resistentes a antibióticos. La potencialidad de los isotiocianatos se demostró en una investigación de *Helicobacter pylori*, responsable de úlceras gástricas y duodenales. En nuevos estudios se identificó la actividad antimicrobiana de extractos de semillas de *Moringa oleífera* sobre las bacterias *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*, responsable de la fiebre tifoidea, el cólera y la gastroenteritis, respectivamente. Los investigadores consideran que este resultado tiene mucho impacto, pues se trata de agentes antimicrobianos naturales que forman parte de un método barato y sostenible para controlar las enfermedades y optimizar la calidad de vida en lugares con escasos recursos. Cabe destacar que, en varios lugares rurales con bajos recursos no se utiliza desinfectantes al agua, lo cual puede generar enfermedades por contaminación. ⁽²³⁾

- **Componentes Químicos de la Moringa Oleífera (Moringa)**

Los estudios fitoquímicos han demostrado que la *Moringa oleífera* (Moringa) presenta glucosinolatos, isotiocianatos, flavonoides, antocianinas, proantocianidinas y cinamatos. Diversos compuestos identificados pueden ser considerados como nutracéuticos, debido a su utilidad en la nutrición. Por ejemplo, el 4-(4'-O-acetil- α -L-ramnopiranosiloxi)-isotiocianato de bencilo, el 4-(α -Lramnopiranosiloxi)-isotiocianato de bencilo, el isotiocianato de bencilo y el 4-(α -Lramnopiranosiloxi)-glucosinolato de bencilo tiene actividad anticancerígena, hipotensora y antibacteriana. El nivel alto de vitaminas, minerales y otros fitoquímicos como vainillina, ácidos grasos omega, carotenoides, ascorbatos, tocoferoles, β -sitosterol, ácido octacosanoico, moringina, moringinina y Fito estrógenos también es un factor relevante en los efectos terapéuticos de *Moringa oleífera*. ⁽²³⁾

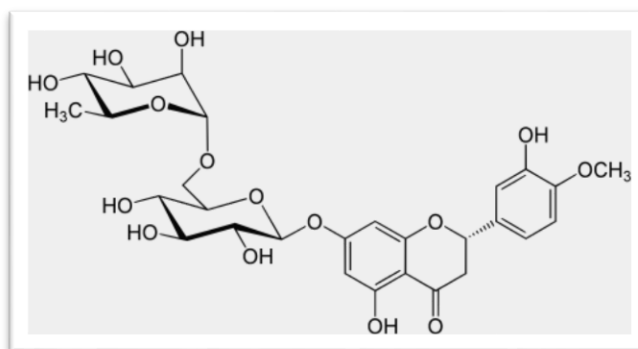


Figura N° 3: Flavonoide presente en la *Moringa oleífera* (Hesperidina)

Fuente: Martín et al., 2013

Igualmente, las hojas poseen quercetina-3-O-glucósido y quercetina-3-O-(6-malonilglucósido), y porciones menores de kaempferol-3-O-glucósido y kaempferol-3-O-(6-malonil-glucósido), ácido 5-cafeoilquínico. Las investigaciones fotoquímicas de la *Moringa oleífera* demostraron la existencia de polifenoles relevantes (glucósidos de quercetina, rutina, glucósidos kaempferol y ácidos clorogénicos). ⁽²⁴⁾

Faizi et al. (1995), aisló 6 nuevos glucósidos y 3 sintéticamente, a partir de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa), utilizando un método de aislamiento bioensayo, orientado en el extracto etanólico. La mayor parte de los compuestos, que llevan grupos tiocarbamato, carbamato o nitrilo, son, en su totalidad, glicósidosacetilados, los cuales son muy raros en el ambiente. La elucidación de las estructuras se desarrolló, a través de métodos químicos y espectroscópicos (Wadhwa et al., 2013). Shanker et al. (2007) aislados glucósidos de nitrilo (niaziridin y niazirin) a partir de las hojas, vainas y la corteza de *Moringa oleífera* por HPLC en fase inversa (Shanker et al., 2007). Chen et al. (2007) identificaron 44 compuestos del aceite esencial aislado de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) por GC-MS análisis. ⁽²⁴⁾

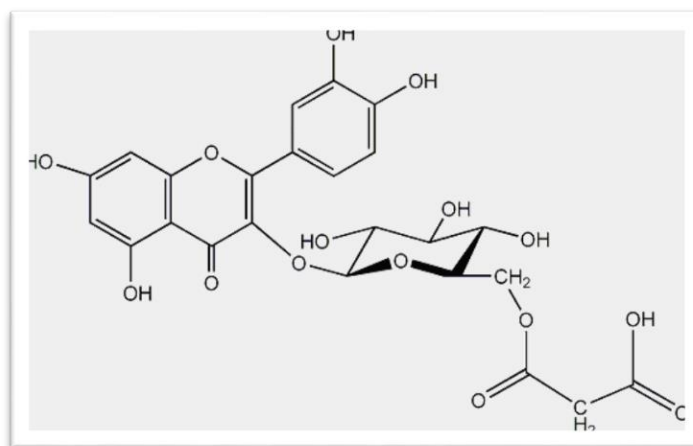


Figura N° 4: Aceite esencial presente en la *Moringa oleífera* (kaempferol-3-O-(6-malonil-glucósido)

Fuente: Mishara et al., 2011

Se detectó la existencia de ácidos: fenólicos, gálico, clorogénico, elágico, ferúlico. Así como flavonoides: kaempferol, quercetina y la rutina de las hojas de *Moringa oleífera* por técnicas de HPLC (Verma et al., 2009). Se identificaron 3 tipos de estructuras fitoquímicas de uso medicinal: glucosinolatos, flavonoides y ácidos fenólicos su contenido en las hojas de *Moringa oleífera* modifica los factores ambientales en donde crece la planta, de igual forma, sucede con los métodos de procesamiento de las hojas recogidas. ⁽²⁵⁾

- **Extractos**

Los extractos son preparaciones de forma líquida, semisólida o sólida, logrados en función a los tejidos de animal o drogas vegetales en estado generalmente seco. Los extractos ajustados son aceptados dentro del contenido de constituyentes con actividad terapéutica. Los extractos nivelados son obtenidos a partir del extracto que posee sustancias inactivas o mezcla de porciones de extractos. Los extractos cuantificados son modificados, de acuerdo con un rango de constituyentes. Los ajustes se obtienen por la mezcla de lotes del extracto o sumando material específico. Otros extractos son

determinados, especialmente, por su procedimiento de producción y sus especificaciones. ⁽²⁶⁾

- **Preparación de Extractos**

Los extractos son preparados, a través de métodos que tiene como solventes al etanol u otro solvente idóneo. Los lotes de droga vegetal o animales pueden ser mezclados antes de la extracción. De otro lado, la droga vegetal o animal que se extraerá debe ser sometido a un previo tratamiento. Asimismo, las materias no deseables deben ser desechadas antes de la extracción.

Las drogas vegetales, tejido animal y solvente orgánico son utilizados para el procedimiento de extractos. Con respecto a los extractos densos y secos, en el que el solvente orgánico es desechado a través de la evaporación, utilizado también como un solvente reciclado siempre y cuando el proceso de recuperación deba ser inspeccionado y controlado para que el solvente cuenta con los estándares necesarios previos a la mezcla con otros materiales aceptados. ⁽²⁶⁾

El agua es utilizada para el proceso de preparación de extractos, cabe destacar que, debe contar con buena calidad. Menos para el ensayo de endotoxinas bacterianas, el agua cumple con la sección de agua purificada. El agua potable es utilizada solo si cuenta con las especificaciones determinadas por la generación de un extracto específico.

La concentración para obtener la consistencia se consigue por medio de métodos idóneos, como la presión reducida y con una temperatura adecuada, de manera que el debilitamiento de los constituyentes sea reducido al mínimo.

Los aceites esenciales apartados en el proceso pueden ser regresados al extracto, durante una etapa idónea para el procedimiento de manufactura. Los excipientes empleados pueden ser sumados en distintas etapas del proceso de manufactura. Por ejemplo, optimizar la calidad tecnológica, a través de la homogeneidad o consistencia. ⁽²⁶⁾

El proceso de extracción, a través de un solvente específico conduce a las proporciones típicas de un constituyente caracterizado en la materia extraíble. Sin embargo, en el procedimiento de estandarización y cuantificación, se utilizaron los procedimientos de purificación, con el propósito de añadir estas proporciones con relación al valor esperado, como los extractos considerados como “refinados”.

- **Tipos de extractos**

- a. Maceración**

Para conseguir la maceración, este se añade al material vegetal, según sea el caso, en un recipiente lleno del menstuo y se deja reposar por 3 o más días, con agitación constante hasta lograr la extracción del material vegetal. En la parte final del período este se cuela y lo restante es exprimido hasta eliminar el líquido remanente.

El líquido es clarificado por filtración o decantación. La maceración se desarrolla a temperatura ambiental, mientras que los líquidos usados con mayor periodicidad son el alcohol y el agua, cabe destacar que también se puede utilizar vinos, ya sea blanco o tinto.

Con respecto a la maceración en el agua, este no debe durar por largos periodos, ya que podría contaminarse por hongos, esta situación no ocurre con el alcohol o hidroalcohólicos.

El periodo de maceración está con relación a la clase de planta y el principio activo que se estudiará.

- b. Percolación**

Se denomina la percolación como el proceso más empleado para la elaboración de extracto fluidos y tinturas. De otro lado, el percolador es un depósito cónico, el cual tiene una curte en la parte superior, a este se le puede añadir una tapa circular horadada que facilita el ingreso del líquido y la somete a una tenue presión a los materiales colocados en el.

En la zona inferior tiene un cierre graduable para facilitar el ingreso del líquido a una velocidad óptima. El material vegetal es humedecido antes de la colocación en el percolador con una cantidad proporcional al menstro ubicadoos en un recipiente sellado, este deberá reposar por 4 horas, como mínimo.

c. Digestión

La digestión es una manera de macerar con un bajo calentamiento en el procedimiento de extracción, la temperatura no debe cambiar los principios activos del material vegetal, logrando mayor eficacia el uso del menstro.

Los grados de temperatura más empleados son entre 35° y 40° C., incluso puede llegar hasta 50° C. Se usa el procedimiento con las zonas más duras de las plantas, ya que poseen elementos con menor solubilidad. Por ello, se añaden las partes a extraer en un recipiente con el líquido antes calentado a la temperatura apropiada; se mantiene durante media hora y 24 horas, este debe ser agitado constantemente. Luego de ese periodo, se empaqueta en el percolador de manera que admita el ingreso homogéneo del líquido y todo contacto de este con el material vegetal. Se llena de líquido y es tapado por el percolador. Se abre la salida inferior hasta conseguir un goteo homogéneo y se cierra. Se añade más menstro hasta cubrir la totalidad del material y se deja macerando con el percolador cerrado por 24 horas.

Luego de las 24 horas, se deja gotear de a pocos y se añade menstro hasta lograr un volumen según las 3/4 partes de la totalidad del volumen necesitado para el producto final. La masa húmeda es presionada para la extracción todo el líquido posible y con el menstro suficiente para lograr la proporción óptima, se filtra o se clarifica por decantación.

d. Infusión

Es una solución diluida de constituyentes muy solubles de la droga cruda. Es idónea para las drogas aromáticas, para impedir que los aceites volátiles sean evaporados a otras temperaturas.

La infusión se lleva a cabo al sumergir las partes de la planta a emplear en agua hirviendo, debe reposar por 15 minutos para luego ser filtrado, por medio de papel de filtro o tamiz. Existen varias drogas vegetales, envasadas en sobres de papel de filtro idóneos para este procedimiento sin necesidad de emplear utensilios extras. La dosis estándar es de un gramo de planta por cada 10 cc de agua.

- **Aceites esenciales**

Los aceites esenciales son productos volátiles de naturaleza compleja, elaborado por ciertos vegetales a los que confieren un aroma agradable.

Se obtienen por arrastre con corriente de vapor de agua. Químicamente están formados por la mayoría de los monoterpenos y algunos sesquiterpenos y compuestos aromáticos. Son ampliamente utilizados por sus propiedades aromáticas en la industria alimentaria, en perfumería y en la industria de productos de limpieza y por sus propiedades farmacológicas en la industria farmacéutica. ⁽²⁷⁾

- **Metabolitos secundarios**

Los metabolitos secundarios son compuestos derivados del metabolismo primario, pero de limitada distribución en el reino de las plantas, restringidos a un grupo taxonómico particular

Los compuestos secundarios no tienen una función aparente en el metabolismo primario, pero sí tienen una implicación ecológica como defensa contra herbívoros, virus, hongos, bacterias. Otros tienen una función fisiológica, por ejemplo, los alcaloides, las pectinas que pueden servir para el transporte de nitrógeno tóxico y compuestos de almacenamiento, mientras los compuestos fenólicos como los flavonoides realizan una función como protectores de rayos ultravioletas. Además, son una fuente importante de principios activos de medicamentos y de valiosos productos químicos.

Los compuestos secundarios de plantas de interés comercial, han sido incluidos en tres principales categorías según sus rutas biosintéticas: terpenos, compuestos fenólicos y compuestos nitrogenados. Los terpenos se forman por la polimerización de unidades de isoprenos y esteroides y se dividen en seis grupos: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos, tetraterpenos y esteroides, dentro de los cuales se encuentran carotenos, glicósidos cardiotónicos, taxol. Entre los compuestos fenólicos se incluyen los ácidos fenólicos, cumarinas, flavonoides y taninos. Las aplicaciones farmacéuticas de estos compuestos son considerables, se refieren sus efectos como analgésicos, antibacterianos, antihepatotóxicos, antioxidantes y antitumorales. ⁽²⁸⁾

- **Microorganismo**

Los microorganismos son aquellos organismos que por su tamaño reducido son imperceptibles a la vista. También denominados “microbios”, estos organismos cuentan con una organización biológica muy básica, una proporción importante de ellos cuentan con apenas una única célula. Además, se caracterizan por existir numerosas variedades, de diferentes formas y tamaños.

- ✓ Sus reacciones metabólicas son muy veloces.
- ✓ La relación que mantienen con el medio es intensa.
- ✓ Necesitan agua para metabolizar.
- ✓ Desarrollan mecanismos de dispersión y de resistencia.
- ✓ Tienen la capacidad de alterar el medio en el cual se encuentran.
- ✓ Se reproducen a una gran velocidad.
- ✓ Forman parte de los ciclos biogeoquímicos que se llevan adelante en la naturaleza.
- ✓ Son muy livianos, por lo que se transportan en el aire. ⁽²⁸⁾

- **Tipos de microorganismos**

Los microorganismos se caracterizan en cuatro grandes grupos:

- ✓ Bacterias
- ✓ Virus
- ✓ Hongos
- ✓ Parásitos

- **Staphylococcus aureus**

Staphylococcus aureus corresponde a la familia *Staphylococcaceae*. Es Gram positivo, a pesar de que, las cepas viejas o los microorganismos fagocitados se consideran como Gram negativo. Presenta una estructura parecida al coco, este puede aparecer de dos en dos, en cadenas o en racimos. Esta bacteria mide de 0,8 a 1,5 micras de diámetro. Esta es estática y algunas cepas provocan la aparición de una cápsula exterior mucoide que agranda la posibilidad de ocasionar una infección.

Con respecto a su metabolismo, es anaerobio facultativo, coagulosa positivo, catalasa positiva y oxidasa negativa.

Esta bacteria puede transmitirse a través de mamíferos, aves, alimentos y agua. Por lo general los afectados son los seres humanos y los animales con sangre caliente.

Puede alojarse durante varias semanas en cadáveres, así como en los órganos y tejidos de los animales. De otro lado, puede durar días en el suelo, la piel y elementos de vidrio o metal.

Además, puede desarrollarse en soluciones salinas con una proporción de hasta un 15% de cloruro sódico. Cabe destacar que no muestra formas de resistencia.

La transmisión se origina, por lo general, por la ingesta de alimentos contaminados con la bacteria o sus toxinas. La transmisión puede originarse por contacto con personas, animales o elementos contaminados, originado, especialmente por la contaminación accidental, producida por pinchazos o cortes con objetos contaminados y por mordeduras de animales. ⁽²⁸⁾

- **Taxonomía**

Dominio: *Bacteria o Eubacteria*

Filo: *Firmicutes*

Clase: *Cocci*

Orden: *Bacillales*

Familia: *Staphylococcaceae*

Género: *Staphylococcus* (Rosenbach, 1884)

Especie: *Staphylococcus aureus*

Fuente: García y Rojas. (2012).

- **Características generales**

Staphylococcus aureus es un Gran positivo (Gram +), con dimensiones aproximadas de 0,5 a 1,5 μm las que forman grupos de células irregulares que se asemejan a racimos de uvas. Una pequeña cantidad de cepas generan una cápsula que aumenta la virulencia del microorganismo y no produce esporas. Otra característica de los estafilococos es ser aerobios y anaerobios facultativos, tienen actividad metabólica oxidativa y fermentativa. Su desarrollo óptimo se realiza a una temperatura de 36 ± 1 °C, también puede desarrollarse a temperaturas de 45 °C y resisten temperaturas de 60 °C, en un lapso de 30 minutos presenta gran tolerancia a la desecación y en comparación a otras bacterias presentan mayor resistencia a una cierta cantidad de desinfectantes como el cloruro de mercurio y el fenol. Frecuentemente se encuentran como parte de la flora usual de las mucosas y de la piel e incluso en procesos infecciosos referentes a heridas, intoxicaciones alimentarias y en diferentes procedimientos patógenos. (Granados y Villaverde 2011)

- **Características Bioquímicas y Fisiológicas**

La mayor parte de las especies causa catalasa, la cual es una enzima que le admira desdoblar el peróxido de hidrógeno en H_2O y oxígeno libre, esto permite distinguir el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*, los cuales no producen esta enzima

(catalasa negativa). Una de sus características morfológicas del *Staphylococcus aureus* luego de su incubación es la conformación de colonias brillantes, lisas y elevadas con bordes enteros, las colonias tienen una consistencia de crema y un color dorado o amarillo, producto de la generación de un carotenoide. Existen otras especies las cuales presentan un aspecto variable y suelen ser de color blanco intenso sin pigmentación. La producción de coagulasa es una de las principales características que nos ayudan a diferenciar el *Staphylococcus aureus* (coagulasa positiva) de otras especies de estafilococos las cuales no producen esta enzima (coagulosa negativa), esta característica le permite *Staphylococcus aureus* coagular el plasma. ⁽⁴⁾

- **Estructura**

Pared celular. – Dentro de sus elementos principales, encontramos el peptidoglicano y los ácidos teicoicos. El peptidoglicano es un polímero conformado por una estructura esquelética glucídica y cadenas tetrapeptídicas que juntan para armar una red. La unión de las cadenas tetrapeptídicas está compuesta por una estructura de puente de pentaglicina que le proveen la sensibilidad a la lisostafina la cual es una característica del género *Staphylococcus*. Como rol biológico el peptidoglicano proporciona consistencia de la pared bacteriana y su firmeza osmótica. Los ácidos teicoicos, son polímeros de ribitol fosfato con sustituyentes D alanina y N acetil glucosamina. Los anticuerpos son positivos en las infecciones profundas lo cual ayuda a la determinación del diagnóstico, pronóstico, evolución y tiempo del tratamiento. ⁽⁵⁾

Membrana citoplasmática. Es una capa que está formada por lípidos y proteínas que rodea externamente las células y la mayoría de orgánulos citoplasmáticos.

Cápsula. – A pesar de que, los estafilococos carecen de una cápsula notoria, se estableció que determinadas cepas están encapsuladas, las

cuales se encuentran recubiertas por una capa de polisacáridos externo, denominado cápsula mucoide, la cual le proporciona el aumento de la capacidad de adhesión, así como un incremento de efecto antifagocítico (determina mayor invasividad de la bacteria) ⁽⁴⁾

Enzimas

- Coagulasa, enzima específica del *Staphylococcus aureus* la cual es de gran importancia para la patogenicidad. Forma una barrera de fibrina determinando la formación de coágulos intravenosos. ⁽⁵⁾
- Desoxirribonucleasa, la DNAsa termoestable es particular de *S. aureus*. En procesos infecciosos se encarga de eliminar el ADN de las células muertas, a través del aumento de pus en el fluido. G5
- La eliminación intrafagocítica dada por radicales tóxicos de oxígeno puede ser interferida por la Catalasa. Tello (2011)
- Hialuronidasa, incrementa la actividad invasiva de los estafilococos al hidrolizar el ácido hialurónico, mucopolisacárido elemento fundamental de los tejidos. ⁽⁴⁾
- Estafilocinasa, ejerce actividad sobre la fibrina debido a la activación de una profibrinolisisina, así destruye los coágulos de fibrina y de manera teórica, facilita la formación de microtrombos y las metástasis sépticas. ⁽⁴⁾
- Lipasas, capaces de metabolizar las grasas cutáneas. Son un factor de virulencia relevante, ya que contribuye con la diseminación de la infección por los planos adiposos. ⁽⁵⁾
- Nucleasas, pueden contribuir a las lesiones tisulares ya que hidrolizan el ADN de las células eucariotas.

● **Patogenicidad**

Las enfermedades infecciosas son el resultado de la interacción entre el microorganismo causal y el huésped. *Staphylococcus aureus* cuenta con una gran cantidad de características las cuales le proporcionan defensas en relación al huésped infectado, puede comportarse como un organismo comensal y como un agente patógeno. El principal sitio de colonización en los seres humanos es la mucosa nasal. Se ha

estimado que aproximadamente el 30% de la población general es portadora de esta bacteria. ^(1,2)

Staphylococcus aureus produce infecciones de dos maneras: ⁽²⁾

- a.- Manera directa: se da debido a la invasión y luego por la eliminación tisular local. Previamente diseminado por el conducto sanguíneo.
- b.- Por medio de efectos de toxinas.

- **Manifestaciones clínicas**

Staphylococcus aureus es un microorganismo causante de diversos procesos infecciosos los cuales son adquiridos de diversas maneras en la comunidad y/o a nivel hospitalario que van desde infecciones cutáneas hasta infecciones sistémicas mortales. ⁽¹⁾

Tabla N° 2: Manifestaciones Clínicas del *Staphylococcus aureus*

Lugar de Infección	Cuadro Clínico	Localización de Lesiones
En piel y mucosas	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Forunculosis ▪ Impétigo ▪ Paroniquia ▪ Celulitis 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Epidermis (superficial) ▪ Epidermis (superficial) ▪ Epidermis y dermis ▪ Tejido blando junto a las uñas
Generalizadas y en vísceras	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bacteriemia ▪ Osteomielitis ▪ Artritis ▪ Endocarditis ▪ Neumonía ▪ Meningitis 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Torrente circulatorio ▪ Hueso (extremidades inferiores) ▪ Articulaciones ▪ Endocardio ▪ Pulmón ▪ Meninges
Por acción tóxica	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Síndrome de la piel escaldada ▪ Síndrome de shock tóxico ▪ Intoxicaciones alimentarias 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Base de epidermis ▪ Difuso (piel, riñones, músculo) ▪ Aparato digestivo

- **Ciprofloxacino**

Descripción

Fármaco antibiótico que pertenece al grupo de las denominadas fluoroquinolonas que posee efectos bactericidas. Su actividad química se traduce en que puede detener la replicabilidad bacterial de ADN cuando se une con otra enzima denominada ADN girasa la que se bloquea. El ADN girasa tiene la función de deshacer el súper enrollamiento de la cadena doble de ADN, posibilitando que la replicación propiamente dicha pueda proceder a partir de otras

enzimas. La bacteria queda incapacitada para dividirse y finalmente muere, mata el ADN por 3 días seguidos.

- **Farmacocinética**

Luego de la administración por vía oral se absorbe cerca del 70%, la tasa de absorción puede ser retardada por los alimentos, más no su magnitud. Después de esta dosis oral se producen los niveles pico en sangre suero en el lapso de 1 a 2 horas. De 20 a 40% se produce la unión a proteínas plasmáticas. Los niveles en el LCR son alrededor del 10% de los niveles en plasma.

Posiblemente el metabolismo es hepático, siendo la excreción principalmente renal, el tiempo medio es alrededor de 4 horas en adultos con función renal normal.

Absorción. - Luego de la administración oral del antibiótico, Ciprofloxacino, este es absorbido en el intestino delgado, llegando a niveles de concentración plasmáticas máximas entre 60 a 90 minutos. Luego de la administración del antibiótico en dosis únicas de 250 y 500 mg, las concentraciones plasmáticas máximas alcanzan aproximadamente los valores de: 0.8-2 mg/L y 1.5-2.9 mg/L, respectivamente. El Ciprofloxacino administrado junto a los alimentos puede retrasar su absorción, sin embargo, no así a su biodisponibilidad.

Biodisponibilidad. - La total biodisponibilidad del fármaco es de aproximadamente del 70 a 80%. Las concentraciones plasmáticas máxima y del área bajo la curva incrementan sus valores en proporción a las dosis.

Distribución. - En estado estacionario el volumen de distribución corresponde a 2-3 L/kg. Debido a que la unión a proteínas plasmáticas es baja (20-30%) y que regularmente el ciprofloxacino se encuentra presente en plasma en forma no ionizada, prácticamente la totalidad de la dosis administrada se difunde libremente al espacio extravascular. Como consecuencia de este hecho las concentraciones de

ciprofloxacino en determinados líquidos y tejidos corporales pueden ser nítidamente superiores a las que corresponden debido a sus concentraciones plasmáticas.

Metabolismo. – Se detectaron concentraciones pequeñas de cuatro metabolitos: desetilenciprofloxacino, sulfociprofloxacino, oxociprofloxacino y formilciprofloxacino. Los tres primeros metabolitos presentan una actividad antibacteriana comparada o menor al ácido nalidíxico. El último metabolito, en menor importe, es proporcional al norfloxacino, durante su actividad antimicrobiana. Después de su administración oral, estos metabolitos son desechado en un 11,3% por orina y en un 7,5% por materia fecal.

Eliminación. – El ciprofloxacino es excreto grandemente sin necesidad de cambiar la orina, producto de la filtración glomerular, a través de la secreción tubular y el 1% de la dosis es excretada por la vía biliar, por ende, el ciprofloxacino yace en la bilis a altas concentraciones. De otro lado, el aclaramiento renal está entre 3-5 mL/min/kg y el aclaramiento total corporal entre 8-10 mL/min/kg. El aclaramiento no renal de ciprofloxacino es producto del metabolismo hepático, a la secreción transluminal por medio de la mucosa intestinal y a la excreción biliar. El tiempo de desecho de ciprofloxacino es de 3 a 5 horas, de igual forma en vía oral como la intravenosa. En personas con función renal alterada, la vida promedio del desecho puede durar hasta 12 horas.

- **Mecanismo de acción**

Forma parte del grupo de fluoroquinolonas. De otro lado, la acción bactericida de ciprofloxacino es producto de la inhibición de la topoisomerasa de tipo II, de igual forma con la topoisomerasa de tipo IV, útiles para el proceso de replicación, transcripción, reparación y recombinación del ADN bacteriano.

- **Farmacodinámia**

El ciprofloxacino es una fluoroquinolona con acción bactericida que actúa a nivel intracelular inhibiendo la enzima DNA girasa una enzima bacteriana esencial involucrada en la transcripción duplicación y reparación del DNA bacteriano.

- **Antibiótico**

Sustancia química producida por un ser vivo o fabricada por síntesis, capaz de paralizar el desarrollo de ciertos microorganismos patógenos, por su acción bacteriostática, o de causar la muerte de ellos, por su acción bactericida”. Son sustancias que matan a las bacterias o hacen que éstas dejen de crecer. Únicamente afectan a las bacterias, no a los virus.

- **Tipos de Antibióticos**

- ✓ **Bactericida**

Una sustancia bactericida provoca la muerte a una bacteria, lo cual se conoce como efecto bactericida. Los organismos usan un método de defensa, una vez que se sienten vulnerables, secretan sustancias bactericidas las cuales son capaces de combatir contra las bacterias. Los antimicrobianos de efecto lísico o lítico en las bacterias, reducen la población bacteriana en el huésped o en el uso de la sensibilidad microbiana.

- ✓ **Bacteriostático**

El efecto bacteriostático no genera el descenso de la bacteria como lo hace la sustancia bactericida, pero sí imposibilita su multiplicación; esta bacteria entonces solo envejece y fallece sin reproducirse. Este efecto está producido por las sustancias bacteriostáticas. También, son secretadas por los organismos como un mecanismo de defensa.

- **Antimicrobiano**

Los antimicrobianos se definen, como medicamentos que destruyen los microorganismos o impiden su multiplicación o desarrollo. Estos fármacos, se dividen en antibacterianos, antivirales, antimicóticos, antimicobacterianos, antiparasitarios y antirretrovirales.

- Clasificación de los antimicrobianos

Tabla N° 03: Clase de Antimicrobianos

Clase de Antimicrobianos		Criterio (Sí = *)					
Antimicrobianos de Importancia Médica	De Importancia Crítica	Máxima Prioridad	C1	C2	P1	P2	P3
		Cefalosporinas (3 ^{ra} , 4 ^{ta} , 5 ^{ta} generación)	*	*	*	*	*
		Glicopéptidos	*	*	*	*	*
		Macrólidos y cetólidos	*	*	*	*	*
		Polimixinas	*	*	*	*	*
		Quinolonas (ciprofloxacino)	*	*	*	*	*
		Gran prioridad	C1	C2	P1	P2	P3
		Amino glucósidos	*	*		*	*
		Ansamincinas	*	*	*	*	
		Carbapenicos	*	*	*	*	
	Gliciliclinas	*	*	*			
	Lipopéptidos	*	*	*			
	Monobactámicos	*	*	*			
	Oxazolidinonas	*	*	*			
	Penicilinas	*	*		*	*	
	Derivados del ácido fosfónico	*	*	*	*		
	Muy Importantes	Muy Importantes	C1	C2	P1	P2	P3
		Amidinopenicilinas		*	N.A.		
		Anfenicoles		*			
		Cefalosporinas		*			
Lincosamidas			*				
Penicilinas			*				
Ácidos pseudomonicos			*				
Riminofenazinas		*					
Esteroides			*				
Estreptograminas			*				
Sulfonamidas			*				
Sulfonas		*					
Tetraciclinas	*						

Fuente: Organización Mundial de la Salud

<http://www.who.int/foodsafety/publications/cia2017es.pdf?ua=1>

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

El aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) presenta un efecto antimicrobiano en cepas *Staphylococcus aureus*.

2.3.2 Hipótesis específicas

1. Existen metabolitos secundarios con mayor concentración en el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa).
2. Existe una concentración del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) que posee efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*.
3. El aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) presenta mayor efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco ciprofloxacino

2.4 Variables

2.4.1 Tabla de Operacionalización de Variables

Tabla N° 4: Operacionalización de Variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
V. Independiente Aceite esencial de las hojas de Moringa (<i>Moringa oleífera</i>)	Fitoquímica	Metabolitos secundarios.
V. Dependiente Efecto antimicrobiano frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i>	Microbiológico	Halos de inhibición

2.5 Marco Conceptual

Cultivos

En microbiología, el cultivo es un método para la producción de microorganismos, como las bacterias. En este se elabora un ambiente favorable para conseguir un determinado proceso. Es empleado principalmente en investigaciones que implique bacterias y otros microorganismos causantes de enfermedades en humanos y animales.

In vitro

Es una técnica que se usa en un tubo de ensayo o en un ambiente controlado fuera de organismos vivos. Un ejemplo de eso es la fecundación in vitro.

Microbiología

Es la ciencia que se encarga del estudio y el análisis de los microorganismos y microbios. Sólo se dedica a estudiar a los organismos que son visibles a través del microscopio, tales como organismos procariotas y eucariotas simples.

Extracto etanólico

Se conoce como extracto etanólico a la sustancia obtenida a causa de una extracción de una materia prima, frecuentemente usando etanol o agua. Estos extractos se pueden comercializar como tinturas o en forma de polvo.

In Vivo

In vivo significa “que ocurre o tiene lugar dentro de un organismo”. En ciencia se refiere a experimentación hecha dentro o en el tejido vivo de un organismo vivo, por oposición a uno parcial o muerto. Pruebas con animales y los ensayos clínicos son formas de investigación in vivo.

In Situ

Es una locución de origen latino que significa “en el lugar”, “en el sitio”.

CAPÍTULO III: MÉTODO

3.1 Tipo de Estudio

De acuerdo con las características y al alcance de los resultados, la presente investigación es un estudio de tipo:

Descriptivo: ya que nos permitió describir los resultados obtenidos durante la fase de ensayos experimentales realizados.

Analítico: porque nos permitió analizar la actividad de los metabolitos sobre la cepa de estudio

Transversal: ya que la investigación se realizó en tiempo específico, fase preliminar y fase analítica.

Nivel de la investigación

Aplicada: ya que no solo se realizó la investigación, sino que, en el transcurso del estudio se analizaron y compararon los resultados obtenidos entre las muestras de estudio y los controles.

3.2 Diseño a utilizar

Esta investigación corresponde a un diseño experimental, en este se identificó: un grupo control y uno experimental. Los cuales se miden por medio de pruebas y fichas de observación para registrar los hallazgos.

3.3 Población

La población microbiológica: está formada por una cepa inactiva de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), la cual se activa al realizar el sembrado en el medio de cultivo Müller Hinton.

La población vegetal: está formada por las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) obtenidas del departamento de Lima, provincia de Canta,

caserío de Buenavista (km 37); a una altura de 2702 msnm. donde en estado silvestre crece esta planta.

3.4 Muestra

Muestra microbiológica: está formada por 30 placas de colonias de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) a una concentración de 0.5 según la escala de Mac Farland (1.5×10^8 UFC/mL) con los cuales se prepararán los medios de cultivo.

Muestra vegetal: está constituida por 5 kilos de hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) las cuales serán sometidas a arrastre de vapor para obtener el aceite esencial.

3.5 Técnicas e Instrumento de recolección de datos

Para la recolección de datos de la prueba de solubilidad, marcha fitoquímica, actividad antimicrobiana, se utilizó la ficha de observación ad-hoc de recopilación de datos. El instrumento en mención estuvo constituido de acorde a las características de los indicadores. Los instrumentos estuvieron validados por personal calificado, que lo catalogaron como viables y aplicables, se encuentra en el anexo N° 11. Estos Docentes calificados fueron:

- a. Vílchez Cáceda, Héctor
- b. Jacinto Hervías, Pedro
- c. Flores López, Oscar

3.6 Procesamiento de datos

En este trabajo de investigación de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*, se utilizó el programa estadístico SSPS.

Procedimiento Experimental

- **Recolección de la muestra vegetal**

La *Moringa oleífera* (Moringa), fue recolectada en el departamento de Lima, provincia de Canta, caserío de Buenavista (km 37), a una altura de 2702 msnm. Para llegar a las plantaciones de Moringa, tuvimos la ayuda de un poblador para que nos oriente en la recolección de la muestra. Una vez recolectada la muestra, fueron envueltas con papel kraf y en bolsas oscuras y colocadas en cajas para su transporte a la ciudad de Lima, para iniciar el proceso de selección y acondicionamiento. Esta actividad se realizó en los laboratorios de Ciencias básicas de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso De La Vega.

- **Identificación de la muestra de estudio.**

La identificación taxonómica de la planta *Moringa oleífera* (Moringa), se realizó en el museo de historia natural perteneciente a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicado en la Av. Arenales 1256 distrito de Jesús María. Para ello se utilizó el sistema de clasificación de Cronquis (1988) realizado por la bióloga María Isabel La Torre Acuy, obteniéndose el certificado N° 431. (Anexo N° 1).

- **Obtención del aceite esencial.**

Se emplearon 5 kilos de hojas frescas, las cuales fueron lavadas y secadas en la estufa a una temperatura de 45° hasta peso constante, obteniéndose 3.5 kilogramos de muestra. Una vez secas las hojas se procedieron a triturar con ayuda de un mortero. Se armó el equipo de destilación por arrastre de vapor en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. En un balón se agregó 500 mL

de agua purificada, por cada 500 gramos de hojas secas trituradas y se obtuvo 10 mL. de aceite esencial. El método de extracción se repitió cinco veces, es decir, se usó 3.5 kg de planta seca y triturada. El rendimiento de la destilación obtuvo 50 mL de aceite esencial. Dicho producto, se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar y se guardó en la refrigeradora a una temperatura de 2 – 8 °C para su conservación y posterior uso.

- **Determinación de metabolitos secundarios del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa)**

Según Domínguez ⁽³³⁾ y Moncayo, S. ⁽³⁵⁾ las determinaciones de metabolitos secundarios se realizaron con los siguientes ensayos

- **Identificación de taninos**

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se agregó 3 gotas del reactivo (Gelatina – Cloruro de sodio). La reacción es positiva si presenta un precipitado blanco en el fondo del tubo.

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 3 gotas del reactivo de cloruro férrico. La reacción es positiva si presenta una coloración negra azulada (ácido pirogálico) o si presenta coloración verde (catequinas).

- **Identificación de flavonoides**

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 1 limadura de magnesio y luego se añadió 5 gotas de HCl (Reactivo de Shinoda). La reacción es positiva si presenta una coloración naranja.

- **Identificación de cumarinas**

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 3 gotas del reactivo de NaOH 10%. La reacción es positiva si presenta fluorescencia de color celeste.

- **Identificación de quinonas**

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 3 gotas del reactivo de NaOH 5%. La reacción es positiva para compuestos quinónicos si presenta fluorescencia de color verde amarillenta bajo la lámpara UV 365nm.

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 2 gotas del reactivo NaOH 5% y se aciduló con HCL (Reactivo de Bortranger). Se añadió un solvente bencénico, se agitó y se separó la fase bencénica, finalmente se añadió NH₄OH. La reacción es positiva si presenta coloración rosada a roja lo que indica presencia de antraquinonas.

- **Identificación de alcaloides**

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 2 gotas del reactivo de Dragendorff. La reacción es positiva si presenta un precipitado de coloración naranja a rojo.

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 2 gotas del reactivo de Mayer. La reacción es positiva si presenta un precipitado de coloración blanco a crema.

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 2 gotas del reactivo de Bertrand. La reacción es positiva si presenta un precipitado de coloración blanco.

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 2 gotas del reactivo de Sonneschein. La reacción es positiva si presenta una coloración amarilla verdosa.

- **Identificación de aminoácidos libres y grupos amino**

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 2 gotas del reactivo de Ninhidrina. Se procede a calentar a baño maría. La reacción es positiva si presenta un amarillo violáceo.

- **Identificación de triterpenoides y esteroides**

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 2 gotas del reactivo de Lieberman- Burchard. La reacción es positiva si presenta una coloración verde azulada para esteroides y rojo naranja para triterpenoides.

- **Identificación de Saponinas**

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 5ml de agua destilada. La reacción es positiva si presenta espuma estable después de 3 minutos de agitación.

- **Identificación de Glicósidos**

En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de aceite esencial y se le agregó 2 gotas del reactivo de Baljet. La reacción es positiva si presenta una coloración anaranjada.

➤ **Prueba de solubilidad**

Para la prueba de solubilidad se utilizó el método descrito por Olga Lock.

- ❖ Tubo N° 1 colocar 0.5 mL de aceite esencial y se agregó 2 mL de agua
- ❖ Tubo N° 2 colocar 0.5 mL de aceite esencial y se agregó 2 mL de acetona
- ❖ Tubo N° 3 colocar 0.5 mL de aceite esencial y se agregó 2 mL de metanol
- ❖ Tubo N° 4 colocar 0.5 mL de aceite esencial y se agregó 2 mL de etanol
- ❖ Tubo N° 5 colocar 0.5 mL de aceite esencial y se agregó 2 mL de cloroformo
- ❖ Tubo N° 6 colocar 0.5 mL de aceite esencial y se agregó 2 mL de N-butanol
- ❖ Tubo N° 7 colocar 0.5 mL de aceite esencial y se agregó 2 mL de éter etílico
- ❖ Tubo N° 8 colocar 0.5 mL de aceite esencial y se agregó 2 mL de N-Hexano

Los resultados se observan en la Tabla N°6

➤ **Procedimiento Experimental de la Actividad Antimicrobiana**

El aceite esencial se mantuvo en refrigeración hasta el momento de su uso, se procedió a realizar diluciones con Dimetil sulfóxido para su correcta homogenización del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) según diseño de (Cedamano & Mejía, 2014).

Se prepararon 03 tipos de diluciones del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa)

➤ **Preparación:**

- Preparación del aceite esencial al 25%: se mezcló 0.75 mL de Dimetil Sulfóxido con 0.25 mL de aceite esencial.
- Preparación del aceite esencial al 50%: se mezcló 0.5 mL de Dimetil Sulfóxido con 0.5 mL de aceite esencial.
- Preparación del aceite esencial al 75%: se mezcló 0.25 mL de Dimetil Sulfóxido con 0.75 mL de aceite esencial.

● **Preparación del Inóculo**

Se trabajó con los microorganismos de un cultivo puro de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 se transfirió la colonia a un tubo que contenga 10 mL de caldo peptonado. Se incubó este cultivo de 35 °C a 37 °C hasta que alcance la turbidez del estándar de 0.5 de la escala de Mc. Farland, esto por lo general ocurre en un tiempo de 2 a 6 horas. Se diluyó el cultivo con agua destilada estéril hasta obtener una turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de Mc Farland lo cual corresponde aproximadamente a 1.5×10^8 microorganismos viables por mL.

● **Estándar de turbidez**

Se preparó este estándar añadiendo 0.5 mL 0.048 M de BaCl_2 a 99.5 mL de H_2SO_4 0.36 N. Se mezcló y se distribuyó en tubos tapa rosca 13 x 100 en cantidad de 6 a 8 mL.; se selló herméticamente y se almacenó a temperatura ambiente.

● **Siembra**

Se sembró un inóculo sobre la superficie del medio Agar Müller Hinton con un hisopo estéril. La siembra se realizó en tres direcciones evitando los inóculos muy concentrados. Se dejó fraguar el medio durante 5 a

20 minutos, manteniendo la caja con la tapa cerrada. Se colocó los discos sobre la superficie del agar con pinzas estériles; se presionó los discos ligeramente sobre el agar preparado de Müller Hinton para asegurar un contacto uniforme sobre el sembrado de la bacteria.

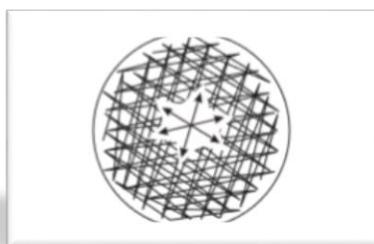


Figura N° 5: Direcciones en el sembrado del inóculo sobre la superficie del Agar

Fuente: Instituto Nacional de Salud

Se realizó una marcación en la superficie externa de las placas del medio de cultivo Müller Hinton, dividiéndolo en tres secciones. Se añadió 2 discos en la periferia y 1 en el centro dejando entre disco y disco un espacio (aproximadamente de 3 cm.).

- **Actividad Antimicrobiana**

La determinación de la actividad antimicrobiana se realizó por:

- Método: Difusión de disco.
- Técnica: Siembra en superficie.

- **Obtención de los microorganismos**

Se adquirió en centro IBACLIN MEDICA, se realizó el trabajo de Investigación con una cepa de bacteria estándar de *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6538TM*) de Marca MICROBIOLOGICS Producto diseñado solo para propósito de estudio en investigaciones in vitro.

- **Preparación de materiales para el medio de cultivo**

Se Preparó los siguientes Materiales:

- Pipetas 0,5 mL “Pírex”
- 5 Pipetas 1,0 mL “Pírex”
- 5 Tubos 10 mm x 100 mm “pírex”
- Gradilla para tubos de ensayo - Mechero de Bunsen
- 30 Placas Petri de 90 x 15 mm. estériles descartables
- Agar Müller Hinton
- 4 Asas de Kohle
- 2 Pinzas estériles
- Cepas de *Staphylococcus Aureus* (ATCC® 6538TM*)
- Halos de papel filtro estériles
- Refrigerador, marca LG/ER, serie 27177 BQ
- Autoclave horizontal semi automático.
- Incubadora
- Regla para medición
- Materiales de Limpieza
- Agua destilada estéril.

- **Discos de sensibilidad**

El disco estándar se preparó con papel filtro Whatman N°10 de 6 mm de diámetro que posteriormente se procedió a esterilizar a 150°C. por 20 minutos. El disco fue almacenado a temperatura ambiente para posteriormente ser colocado cuidadosamente con una pinza estéril en la superficie del agar Müller Hinton.

- **Preparación de los medios de cultivo**

El agar Müller - Hinton se preparó con agua destilada de acuerdo a la indicación técnica del laboratorio fabricante del medio de cultivo

(Laboratorios Merck), para 1 litro de medio de cultivo, se pesó 45g de agar.

Se disolvió el medio de cultivo con agua destilada y posteriormente fue esterilizado a una temperatura 121°C y 15 lb de presión durante 15 minutos. Luego de este proceso de esterilización y fundición se dejó enfriar en Baño María a 50 - 55°C. Alcanzando esta temperatura se vertió el preparado fresco y tibio a las placas Petri estériles del laboratorio biologix, se empleó para cada placa 20 mL del medio de cultivo de agar Müller Hinton.

- **Sembrado de la muestra**

Método de Kirby-Bauer. (Método disco-placa-cultivo) según (Udayakumar & Hazzena, 2002).

Se empleó el agar Müller Hinton, dado que se considera el mejor medio dirigido para estos tipos de pruebas de sensibilidad de rutina y se preparó según el protocolo del laboratorio fabricante, las cuales fueron adquiridas en el Laboratorio microbiológico Ibaclin Médica. Se realizó la siembra en las 30 placas de agar Müller Hinton en estrías múltiples para su crecimiento total de colonias bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, para su tratamiento con el ciprofloxacino y con el aceite esencial de la Moringa ⁽²⁹⁾

- **Preparación de las diluciones**

Los procesos para el grado de turbidez del *Staphylococcus aureus* del Inóculo estandarizado se procedió a extraer con una micropipeta 100 uL, para ser comparados por el grado de turbidez en la escala de Mac Farland. cumpliendo el diseño experimental se realiza las siembras de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, que fueron distribuidas en todas las direcciones de la superficie de las placas con medio de cultivo en estudio; teniendo en cuenta que cada placa tiene una distribución uniforme del inóculo de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, antes de colocar los discos para su tratamiento.

- **Medición de los Halos de Inhibición**

La zona de inhibición fue medida por cada disco contra una superficie sombría bajo luz reflejada. Se midió el diámetro de la zona, incluye los 6 mm del disco, con una regla sobre el respaldo de la caja Petri sin remoción de la tapa. Una lectura de 6 mm señala que carece zonas de inhibición. El resultado de la zona de inhibición puede conocerse luego de 6 u 8 horas de ser incubadas. No obstante, las lecturas deben ser corroboradas después de terminar el tiempo de incubación de 24 horas.

(30)

- **Interpretación de Resultados**

Luego de 24 horas de incubación realizada en una incubadora marca Binder de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso De La Vega, cada placa fue revisada. Los diámetros de la zona de inhibición completa fueron medidos en milímetros pasando por el centro del disco. La medición se realizó con una regla (según Kirby-Bauer Biomédica). Los valores de las mediciones fueron promediados y comparados con las medidas de los halos de inhibición producidos por el antibiótico Ciprofloxacino según diseño de la Investigación. (30)

Tabla N° 5: Diseño experimental de la actividad Antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (moringa)

PLACAS CONTENIENDO <i>Staphylococcus aureus</i>			
GRUPOS (6 placas por grupo)	BLANCO	CONTROL POSITIVO	CONCENTRACIÓN DE EXTRACTO
N°1	Dimetil Sulfóxido	Ciprofloxacino 5 ug	Aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i> al 25%
N°2	Dimetil Sulfóxido	Ciprofloxacino 5 ug	Aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i> al 50%
N°3	Dimetil Sulfóxido	Ciprofloxacino 5 ug	Aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i> al 75%

Fuente: elaboración propia

Todas las placas se rotularon y se incubaron a 37°C por un período de 24 horas.

Para la inoculación del aceite esencial de *Moringa oleífera* en las concentraciones de 25%, 50% y 75%, Dimetil Sulfóxido y Ciprofloxacino 5 ug se utilizó el método de Kirby-Bauer.

En el grupo n°1 se emplearon 06 placas y en cada placa se sembró aceite esencial de la *Moringa oleífera* al 25%, Dimetil Sulfóxido y ciprofloxacino.

En el grupo N°2 se emplearon 06 placas y en cada placa se sembró aceite esencial de la *Moringa oleífera* al 50%, Dimetil Sulfóxido y ciprofloxacino 5 ug.

En el grupo N°3 se emplearon 06 placas y en cada placa se sembró aceite esencial de la *Moringa oleífera* al 75%, Dimetil Sulfóxido y ciprofloxacino 5 ug.

A cada placa de agar Müller Hinton que contiene el inóculo estandarizado de *Staphylococcus aureus* se colocaron discos de sensibilidad, distribuidos de la misma forma que la tabla N° 5.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Presentación de los Resultados

A. Resultados de la Prueba de Solubilidad

Los resultados de la prueba de solubilidad se observan en la Tabla N° 6.

Tabla N° 6: Prueba de Solubilidad del Aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa)

Disolventes	Solubilidad
Agua	-
Acetona	+
Metanol	-
Etanol	+
cloroformo	++
N- Butanol	-
Éter etílico	++
N hexano	-

Leyenda: insoluble (-), poco soluble (+), soluble (++) y muy soluble (+++)

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 6 se observa que el aceite esencial es soluble en cloroformo y éter etílico.

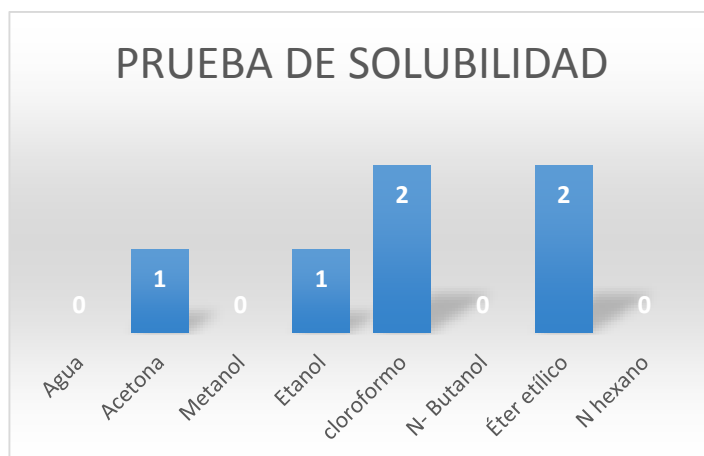


Figura N° 6: Gráfica de la Prueba de Solubilidad.

Fuente: Elaboración propia

En la figura N° 6 se observa las pruebas de solubilidad del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (moringa) en barras, demostrando que en los solventes de Cloroformo y Éter etílico es más soluble.

B. Resultado de la marcha fitoquímica

Los resultados de la marcha fitoquímica se observan en la: Tabla N° 7

Tabla N° 7: Marcha fitoquímica del aceite esencial

MARCHA FITOQUÍMICA DE LA MORINGA				
Nº	Metabolito	Reactivo de Reacción	Reacción Positiva	Resultado
1.	ALCALOIDES	Bertrand	Precipitado blanco	+
		Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	+
		Mayer	Coloración blanquecina	+
		Sonneschein	coloración amarillo verdoso	+
2.	COMPUESTOS FENÓLICOS	FeCl₃	Coloración Verde	++
3.	TANINOS	Gelatina 1%	Precipitado denso blanco	-
4.	FLAVONOIDES	Shinoda	Flavonoides: Anaranjado	+
5.	AMINOÁCIDOS	Ninhidrina	Coloración violácea	++
6.	NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Bortranger (NaOH 5%)	Coloración roja	-
7.	TERPENOS	Liebermann Bouchard	Anillo de color rojo	+
8.	SAPONINAS	Agitación por 5 min.	Espuma x 15 min	-
9.	CUMARINAS	Hidróxido de sodio al 10%	Fluorescencia celeste	+
10.	GLICÓSIDOS	Rvo. Baljet	Coloración naranja	+

Leyenda: Leyenda: (-) nulo; (+) poco; (++) moderado; (+++) abundante.

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 7 se observa que el aceite esencial de las hojas de la *Moringa Oleífera* (moringa) contiene compuestos fenólicos en gran proporción, flavonoides, alcaloides, glicósidos, cumarinas, terpenos.

C. Resultado de la Actividad Antimicrobiana

Los resultados de la actividad antimicrobiana del aceite esencial (medición de halo de inhibición) se observa en la Tabla N° 8

Tabla N° 8: Resultado de la medición de los halos del aceite esencial de *Moringa oleífera* (Moringa)

Resultados: Lecturas de los Halos de Inhibición de cepas <i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC® 6538™* en mm						
N° de los Medios	Aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> (Moringa) al 25 %.		Aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> (Moringa) al 50 %.		Aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleífera</i> (Moringa) al 75%.	
	Moringa 25%	Ciprofloxacino	Moringa 50%	Ciprofloxacino	Moringa 75%	Ciprofloxacino
1	5.8	38.2	23.2	38.4	35.4	38.4
2	6.1	38.7	30.1	39.1	30.7	38.9
3	5.4	39.1	20.6	40.2	25.2	39.5
4	6.2	40.1	26.2	39.6	27.3	40.3
5	5.7	39.7	23.4	39.2	20.7	39.7
6	5.9	39.6	20.7	38.7	25.6	40.8
Media	5.9	39.2	24.0	39.2	27.5	39.6

En la tabla N° 8 se observan los resultados de las 06 placas por ensayo, las mediciones fueron realizadas con una regla, como promedio de halo inhibitorio de 5.9 mm para el aceite al 25%; 24.0 mm para el aceite al 50% y 27.5 mm para el aceite al 75%. Así como un halo de 39.3 mm en promedio para el control positivo de Ciprofloxacino.

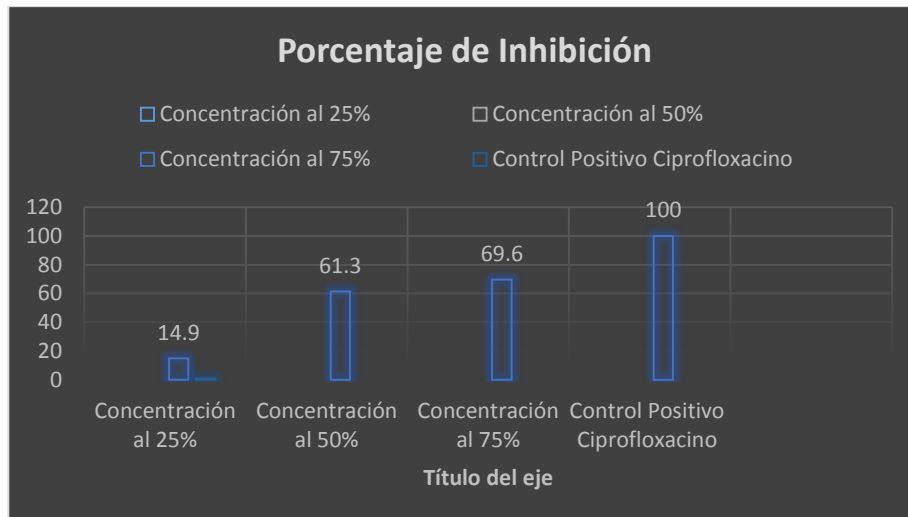


Figura N° 7: Gráfica de los Porcentajes de Inhibición.

Fuente: Elaboración propia

En la figura N° 7: se observa los porcentajes de cada concentración del aceite esencial de las hojas de *Moringa Oleífera* (Moringa), donde se puede evidenciar que un buen efecto antimicrobiano lo tienen las concentraciones de 50% y 75% comparándolo con el control positivo de Ciprofloxacino.

4.2 Contrastación de hipótesis

Para las contrastaciones vamos a plantear hipótesis nula y alterna a las tres hipótesis específicas y que mediante estadísticos se da severidad a los resultados obtenidos.

Según Anova (análisis de varianza de un factor), el estadístico de Tukey y la Prueba de Fischer.

A. Contrastación de la Hipótesis Especifica 1

Existen metabolitos secundarios con mayor concentración en el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa).

H₀ = No existen metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa).

H₁= Si Existen metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa).

Resultados:

Según los resultados de la marcha fitoquímica, se demostró que el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) presenta metabolitos secundarios tales como: Alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y terpenos. (Tabla N° 7)

Decisión:

Después de evaluar los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica descrita por el método de Olga Lock en su libro “Investigación Fitoquímica” se rechaza la hipótesis nula (H₀) y se acepta la hipótesis específica (H₁), Si Existen metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa).

B. Contrastación de la Hipótesis Especifica 2

Existe una concentración del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) que posee efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*

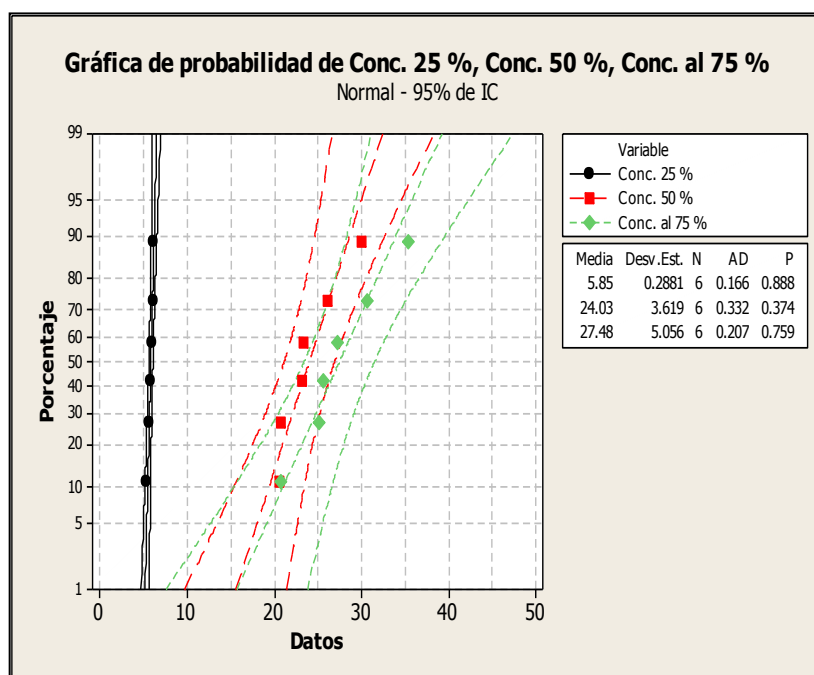
H₀ = No existe una concentración del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) que posee efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*

H₁= Si existe una concentración del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) que posee efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*.

Resultados:

Los resultados obtenidos en la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) por el método de Kirby Bauer demostraron que a la concentración del 25% no presenta

una inhibición apreciable, sin embargo, las concentraciones al 50% y 75% si demostraron efecto antimicrobiano importante, tal como se demostró en la gráfica N°8



Decisión:

Como el p -Valor es menor a 0.05 en las concentraciones al 50% y 75%, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis específica, Si existe una concentración del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) responsables del efecto antimicrobiano frente a *Staphylococcus aureus*, tal como se observa en la tabla N°9

C. Contrastación de la Hipótesis Específica 3

El aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) presenta mayor efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco ciprofloxacino

H₀= El aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) No presenta mayor efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco ciprofloxacino

H₁= El aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) Si presenta mayor efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco ciprofloxacino.

Resultado:

Se observa los resultados del estadístico de Tukey a las concentraciones de 25%, 50% y 75% así como el control positivo de Ciprofloxacino, la estadística demostró que, si bien las muestras presentan efecto antimicrobiano, el valor obtenido por el control positivo que fue el ciprofloxacino demostró mayor performance de inhibición lo que se observa en la tabla N°9

Tabla N° 9: Diferencias de muestra.

Diferencias de muestras							
Prueba de $\mu = 21$ Vs > 21							
Variable	N	Media	Des. St	E. St Me	95% L.I.	T	P
Con. 25%	5	5.850	0.288	0.118	5.613	-128.81	1.0000
Con. 50%	5	24.03	3.62	1.48	21.06	2.05	0.048
Con. 75%	5	27.48	5.06	2.06	23.32	3.14	0.013
Ciprofloxacino	5	39.3	0.703	0.287	38.655	63.50	0.000

Tabla N° 10: Análisis de Varianza

Análisis de Varianza						
Origen de las variaciones	Suma de los cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Ent. Grupos.	6267.20837	4	1566.802	200.2419	1.34959 E-18	2.7587
Dent. Grupos.	195.613703	25	7.8245			
Total	6462.82207	29				

Decisión:

Como el p=valor es menor a $\alpha=0.05$ en dos muestras y en el control positivo, se puede decir que el ciprofloxacino presenta mayor efecto antimicrobiano que las muestras de estudio por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna: El aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) Si presenta mayor efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco ciprofloxacino.

```

Prueba e IC para dos varianzas: Ciprofloxacino, Conc. 50 %

Método

Hipótesis nula      Sigma(Ciprofloxacino) / Sigma(Conc. 50 %) = 1
Hipótesis alterna  Sigma(Ciprofloxacino) / Sigma(Conc. 50 %) not = 1
Nivel de significancia Alfa = 0.05

Estadísticas

Variable      N  Desv.Est.  Varianza
Ciprofloxacino  6   0.703    0.495
Conc. 50 %     6   3.619   13.099

Relación de desviaciones estándar = 0.194
Relación de varianzas = 0.038

Intervalos de confianza de 95%

Distribución      IC para      IC para
de los datos      relación de  relación de
                   Devs.Est.   varianza
Normal            (0.073, 0.520) (0.005, 0.270)
Continuo          (0.079, 1.946) (0.006, 3.788)

Pruebas

Método      GL1  GL2  Estadística  Valor P
Prueba F (normal)      5    5      0.04      0.003
Prueba de Levene (cualquiera continua)  1   10      3.76      0.081
    
```

Prueba e IC para dos varianzas: Ciprofloxacino, Conc. al 75 %						
Método						
Hipótesis nula	Sigma(Ciprofloxacino) / Sigma(Conc. al 75 %) = 1					
Hipótesis alterna	Sigma(Ciprofloxacino) / Sigma(Conc. al 75 %) not =					
Nivel de significancia	Alfa = 0.05					
Estadísticas						
Variable	N	Desv.Est.	Varianza			
Ciprofloxacino	6	0.703	0.495			
Conc. al 75 %	6	5.056	25.566			
Relación de desviaciones estándar = 0.139						
Relación de varianzas = 0.019						
Intervalos de confianza de 95%						
Distribución de los datos	IC para relación de Desv.Est.		IC para relación de varianza			
Normal	(0.052, 0.372)		(0.003, 0.138)			
Continuo	(0.056, 0.898)		(0.003, 0.807)			
Pruebas						
Método			GL1	GL2	Estadística de prueba	Valor P
Prueba F (normal)			5	5	0.02	0.001
Prueba de Levene (cualquiera continua)			1	10	5.19	0.046

Figura N° 8: Gráfica de Fischer para 50% y 75% comparado con Ciprofloxacino.

Fuente: Elaboración propia

4.3 Discusión de los Resultados

Luego de evaluar los resultados de la marcha fitoquímica, los metabolitos secundarios hallados en el aceite de Moringa fueron: flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides, aminoácidos, esteroides, antocianinas, triterpenoides, glicosidos y cumarinas. (Tabla N° 6). Estos resultados son similares a los hallados por Cabrera J. (2014) quien efectuó la “evaluación del contenido de alcaloides, flavonoides, taninos, y aceites esenciales en tres estados de maduración y recolección de la moringa oleífera” encontrando los mismos compuestos; también a los estudios reportados por Andrade M. (2017) realizo la formulación y aceptabilidad tostadas tipo nacho a base de maíz con moringa encontrando también flavonoides en su evaluación.

En la evaluación del efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa), podemos decir que la concentración al 50% y 75% tienen actividad sobre ***Staphylococcus aureus***. Estos resultados son semejantes a los hallados por Salcedo M. (2017) quien al demostrar el efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de moringa in vitro por el

método Kirby-Bauer (método de difusión en agar) frente a ***Streptococcus mutans*** determinó, que sus concentraciones de extracto al 75% y 100% poseían el mismo efecto inhibitorio. Asimismo, en lo referente al halo de inhibición, este estudio se puede comparar al realizado por Barbaran 2014 quien, al evaluar sus extractos vegetales, obtuvo un promedio de inhibición de 24 mm a diferencia de nuestra investigación que obtuvo 21 mm.

Azucero A. Jaramillo C. (2016) “Desarrollo el efecto antimicrobiano de doce plantas de uso ancestral en Ecuador” para determinar la actividad antimicrobiana de los extractos metanólicos obtenidos, se utilizó la técnica de difusión en agar. El bioensayo de actividad antifúngica realizado a los extractos mostró que tienen acción fungicida alta. Se puede inferir que estas plantas constituyen una fuente de compuestos antimicrobianos de gran valor farmacológico.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1. El aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) contienen metabolitos secundarios en mayor concentración tales como: compuestos fenólicos, aminoácidos y en menor concentración alcaloides, flavonoides, terpenos, cumarinas, glicósidos.
2. El aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) al 75% posee mayor efecto antimicrobiano frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. Las otras concentraciones al 25% y 50% también presentaron un efecto antimicrobiano, pero en menor proporción.
3. El aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) posee menor efecto antimicrobiano que el fármaco control que fue el Ciprofloxacino ya que su halo de inhibición alcanzo un 39.3 mm en comparación a la concentración del aceite esencial de moringa al 75% que solo alcanzo un 27.5 mm.

Los resultados demostraron que el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) si tiene efecto antimicrobiano sobre cepas de *Staphylococcus aureus*.

5.2 Recomendaciones

1. Se recomienda realizar estudios posteriores con la *Moringa Oleífera* (Moringa), ya que presenta numerosos metabolitos con potenciales terapéuticos para hacerle frente a diferentes patologías.
2. Se recomienda realizar una identificación sistemática de los metabolitos activos con la finalidad de aislar los componentes con potenciales terapéuticos
3. Se recomienda introducir el aceite de moringa de manera paulatina en el tratamiento coadyuvante de infecciones para evaluar in vivo las bondades de este producto.

Referencias

1. Situación de las Plantas Medicinales en el Perú. 2018 Uso de las plantas medicinales a lo largo de la historia. Disponible en: http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
2. Organización Mundial de la Salud Medicina Tradicional. Who 2002. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/m/abstract/Js21201es/>
3. Instituto Nacional d Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: INS; 2002. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%202.pdf>
- 4.- De Colza R. Enfermedades infecciosas en pediatría. Vol. 24 Núm. 95 México 2011.
- 5.- Rodríguez Berrios, Kimberly “Comparación del efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de la semilla de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoína sobre Escherichia coli ATCC 35218”
URI: <http://repositorio.unjbg.edu.pe/handle/UNJBG/3311>
Fecha: 2018
- 6.- Arévalo Híjar, Olga Lucía “Efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos a base de *Moringa oleífera* (moringa) y *Azadirachta indica* (neem) sobre cepas de *Enterococcus faecalis*” [Tesis para optar el grado de Odontólogo) Universidad Peruana de ciencias aplicadas (UPC) 2107.
- 7.- Luz Delia Mamani Lima “Actividad antibacteriana de los extractos alcohólicos de *Seneciospp* (Chachacoma) en el crecimiento de *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus sp*” [Tesis para optar el grado de licenciado en Biología] Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ciencias Biológicas Escuela Profesional de Biología. 2017.
URI: <http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/3978>
- 8.- Castro Negreiros Yesabella Brigitte. Eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *Menthapiperita* “menta” y *rosmarinus officinalis* “romero”, sobre *Staphylococcus aureus*, estudio in vitro. [Tesis para obtener el título

profesional de Médico Cirujano] Universidad Cesar Vallejo. Facultad de Ciencias Médicas Escuela Académico Profesional de Medicina. 2016. **URI:** <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/553>

9.- Barbarán Urresti, Cecilia Fátima. “Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos vegetales de las especies de *Tabernaemontana* frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, de la región Loreto, Perú” [Tesis para optar por el título profesional de Químico Farmacéutico] Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2014.

URI: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3599>

10.- Gaviria Tananta, Nora Danae y Vargas Gatica, Christian “Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Smallanthus sonchifolius* “Yacón” sobre *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* *Staphylococcus aureus*.” [Tesis para optar por el título profesional de Químico Farmacéutico] Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2014.

URI: <http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3640>

11.-Castro Francisco y Parra Betsy (2019) “Evaluación de la actividad Antimicrobiana de los extractos de Diclorometano y Cloroformo de la hoja y semilla de *Moringa oleífera* en cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Cándida albicans*.”

12.- Andrea Belén Álvarez Mena. Valor Nutricional de la *Moringa oleífera*. Mito o Realidad Sistematización de experiencias prácticas de investigación e intervención. [Tesis presentado como requisito para la obtención del título de Ingeniera en Alimentos] Universidad San Francisco de Quito USFQ Colegio de Ciencias e Ingenierías. Quito 2017.

URI: usfq.edu.ec/bitstream/23000/6465/1/131761

13.-Salcedo salas Mireya Alexandra “Efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de *Moringa oleífera* (*Moringa*) en concentraciones de 25 %, 50%, 75% y 100% sobre *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro” [Proyecto de Investigación presentado como requisito parcial para aprobar el trabajo

de titulación, para optar por el Título de Odontóloga] Universidad Central del Ecuador Facultad de Odontología. Quito, 2017.

URI: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/13336>

- 14.-Melanie Smanta Andrade Gutiérrez. Formulación y aceptabilidad de tostadas tipo nacho a base de maíz con moringa (moringa oleífera lam). estudio realizado en dos centros educativos de nivel primario en el municipio de Coatepeque, Quetzaltenango [Título de nutricionista en el grado académico de licenciada] Universidad Rafael Landívar. Facultad de Ciencias de la Salud Guatemala, 2017.
- 15.-Andrea Azuero, Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. Revista Ciencia UNEMI Vol. 9, N° 20, septiembre 2016, pp. 11 – 18
- 16.- María Pérez, Lilibeth Cabrera, Gisela Colina. Actividad antibacteriana in vitro de extractos acuoso de moringa oleífera sobre especies patógenas intrahospitalarias 2015
- 17.-Cabrera Carrión J. Evaluación del contenido de alcaloides, flavonoides, taninos y aceites esenciales en tres estados de maduración y recolección de la moringa (moringa oleífera) [Tesis para la obtención del título de: Bioquímico Farmacéutico] Universidad Técnica de Machala. 2014
- 18.-Mahamadou N. (2014) Propiedades fungicidas de semillas de Moringa oleífera frente Rhizoctonia solani y Stemphylium solani, bactericida contra Escherichia coli y aglutinantes contra coliformes totales. Tesis para optar el título de Biólogo. Departamento de Biología de Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas (UCLV). Cuba.
- 19.-Centurión J. (2017). Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Laurus nobilis* “Laurel” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tesis para optar el título de Médico Cirujano. Universidad Privada Antenor Orrego. Facultad de Medicina Humana Escuela Profesional de Medicina Humana. Trujillo- Perú.
- 20.- Ríos M. Flores J. (2016) Actividad antibacteriana de *Chamaesyce thymifolia* frente a *Staphylococcus aureus*, *pseudomona aeruginosa* y *escherichia coli*; por el método de Macrodilución y Difusión en Agar” Tesis

- para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Iquitos Perú.
- 21.-Clemente, K. Pérez, R. (2017) Evaluación de la actividad antimicrobiana de m. oleífera en bacterias patógenas. Tesis para obtener el título de Licenciado en ciencias Tecnológicas de Alimentos. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas Facultad de Ciencias de la Nutrición y Alimentos. México.
- 22.-Arias, C. 2014. Estudio de las posibles zonas de introducción de la Moringa oleífera en la Península Ibérica, Islas Baleares e Islas Canarias. Tesis Ing. España, Universidad Politécnica de Madrid.
- 23.- Lalas, S; Tsaknis, J. 2001. Characterization of Moringa oleífera seed oil variety “Periyakulam 1”.Journal of Food Composition and Analysis 15:65-77.
- 24.- Andrea Guadalupe García Torres. Evaluación de los usos potenciales del teberinto (moringa oleífera) como generador de materia prima para la industria química.
- 25.- Mejía, K., Rengifo, E. Libro “Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana” Lima, Agencia Española de Cooperación Internacional. Primera edición: 1995, Segunda edición corregida y aumentada: setiembre 2000. 286 p.; il.; 23 cm. 2000.
- 26.-Vivot, E., Sánchez, C., Cacik, F., Sequin, CH. Artículo actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (argentina), proyecto de investigación p i d-u n e r 2110, radicado en Facultad de Ciencias Agropecuarias –f c a–, Universidad Nacional de Entre Ríos –u n e r–, Oro Verde (Entre Ríos, Argentina); recibido en abril 2012, admitido en setiembre 2012.
- 27.- Kuklinski, C. (2000). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona, Omega 515p
- 28.- Aguirre Acevedo Y. Determinación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de la raíz de *Cúrcuma longa* en *cándida albicans* y *estafilococo aureus*.
- 29.- (Goodman y Gilman “las Bases Farmacológicas de la Terapéutica” Editorial Mc Graw Hill pág. 56 12va Edición
- 30.- (Bertrán G. Katzung “Farmacología Básica y Clínica” Editorial Mc Graw Hill pág. 70 12va Edición

- 31.- (Guillem Prats Microbiología y Parasitología Medica” Editorial Panamericana pág. 234 9na Edición
- 32.- (Guillem Prats Microbiología y Parasitología Medica” Editorial Panamericana pág. 244 9na Edición.
- 33.- Bernal M. et al. En su publicación titulada el antibiograma de discos. Normalización de la Técnica de kirby-bauer. Biomédica Volumen 3Y 4. Disponible
[file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/1891Texto%20del%20manuscrito%20completo%20\(cuadros%20y%20figuras%20insertos\)-7206](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/1891Texto%20del%20manuscrito%20completo%20(cuadros%20y%20figuras%20insertos)-7206)].
- 34.- Cervantes E. et al. En su revista latinoamericana medigraf de patología clínica características generales de *staphylococcus aureus*. Disponible “[
<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
- 35.- Trease, G.E., EVANS, W.C. Tratado de Farmacognosia. 13. ed. Editorial Interamericana. Madrid, 1991
- 36.- Karuppusamy, S (2009) A review on trends in production of secondary metabolites from higher plants by *in vitro* tissue, organ and cell cultures. Journal of Medicinal Plants Research 3:1222-1239
37. - Fuente: <https://concepto.de/microorganismo/#ixzz65Szk9UWy>.

Anexos

Anexo N° 1: Certificado Botánico de la Planta de *Moringa oleífera*

 **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 431 -USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril), recibida de **Adeli Alicia Correa Bazán y Patricia Jannet Noé Zapata**; estudiantes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Moringa oleífera*** Lam.; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE: DILLENIIDAE
ORDEN: CAPPARALES
FAMILIA: MORINGACEAE
GENERO: *Moringa*
ESPECIE: *Moringa oleífera* Lam

Nombre vulgar: "Moringa"
Determinado por: Mg. María Isabel La Torre Acuy

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 21 de noviembre de 2018

 **Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA**
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Anexo N° 2: Certificado Microbiológico de la Bacteria



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0485 Lot Number: 485-405** Reference Number: ATCC® 6538™* Purity: Pure Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2019/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2016/11/4
Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, circular, glistening, smooth, creamy, opaque, beta hemolytic - both light gold and darker gold colonies may be present. A second colony type maybe present a white, circular, entire, low convex, and beta hemolytic.	Medium: SBAP
Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters.	Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; align-items: flex-start;"> <div style="margin-right: 20px;">  </div> <div> <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> </div> </div> <div style="margin-top: 10px;"> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p> </div> <div style="margin-top: 20px;">  ACCREDITED TESTING CERT #2655.01 </div>	

Anexo N° 3: Certificado de Conformidad de las placas Petri



Certificate of Conformity

This is to certify that,

Biologix is the manufacturer of the following product:

66-1501 Petri dishes 90 x 15mm Petri Dish with vented lid,
Sterile,500pieces/case

1) Our quality System has been found to conform to the Quality System
Standard ISO 9001:2008

2) The products listed below are EO sterilized. The products are sterile if
package integrity is not compromised.

66-1501 Petri dishes 90 x 15mm Petri Dish with vented lid,
Sterile,500pieces/case

Lot# J30974Z1550

Certification Date :2017-5-6



A handwritten signature in cursive script, appearing to read "Luedi".

Authorized Signature: _____

Tel: +86-531-67802668

Fax: +86-531-67803768

www.BiologixGroup.com

Anexo N° 4: Certificado del Agar

Liofilchem® Certificate of Analysis

Page 1 of 1

Product	Batch	Expiration date	
Mueller Hinton II Agar Ref. 610627 – 620627 – 6106275	071817504	2020.10.31	
Physical quality control	Specification	Results	
Expected pH-value (25°C)	7.3 ± 0.2	7.3	
Appearance of powder	Fine, dry, homogeneous, free of extraneous material	Conforms	
Colour of powder	Beige	Conforms	
Appearance of prepared medium	Slightly opalescent	Conforms	
Colour of prepared medium	Amber	Conforms	
Microbiological Performance			
Tested according to CLSI M22-A3, EN ISO 11133, current CLSI and/or EUCAST methodology			
Antimicrobial Susceptibility Testing, Method of control: Disc Diffusion			
Control strains	Antimicrobial agent	Expected results Zone range (mm)	Results
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 25923	Amoxicillin-clavulanic acid AUG 30 (20+10) µg	28–36	Conforms
	Ampicillin-sulbactam AMS 20 (10+10) µg	29–37	Conforms
	Tetracycline TE 30 µg	24–30	Conforms
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC® 29213	Erythromycin ERY 15 µg	23–29	Conforms
	Rifampicin RD 5 µg	30–36	Conforms
	Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT 25 (1.25+23.75) µg	26–32	Conforms
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Amoxicillin-clavulanic acid AUG 30 (20+10) µg	18–24	Conforms
	Ampicillin AMP 10 µg	16–22	Conforms
	Gentamicin CN 10 µg	19–26	Conforms
	Tetracycline TE 30 µg	18–25	Conforms
	Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT 25 (1.25+23.75) µg	23–29	Conforms
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC® 27853	Ceftazidime CAZ 30 µg	22–29	Conforms
	Gentamicin CN 10 µg	17–21*	Conforms
	Ticarcillin-clavulanic acid TTC 85 (75+10) µg	20–28	Conforms
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Tobramycin TOB 10 µg	20–26	Conforms
	Trimethoprim-Sulfamethoxazole SXT 25 (1.25+23.75) µg	26–34	Conforms

*Adjusted to meet both CLSI and EUCAST requirements

Batch Release

Approved

Date

24.07.2017

Signature

Quality Control
(D. Vitagliano)

The results reported were obtained at the time of release.

Dario Vitagliano

©Liofilchem® s.r.l. Via Scozia - Zona Industriale 64026, Roseto degli Abruzzi (TE) Italy - Tel +39 0858930745 - Fax +39 0858930330

CoA Ref. 610627 – 620627 – 6106275 Rev. 4 of 30.10.2015

Anexo N° 5: Certificado del Ciprofloxacino

FECHA DE FABRICACIÓN : MARZO - 2018 LOTE : 103178 FECHA VENCIMIENTO : MARZO - 2022 TÉCNICA DE ANÁLISIS : USP VIGENTE FECHA DE ANÁLISIS : ABRIL - 2018 LINEA FARMACÉUTICA : MEDROCK CORPORATION S.A.C.		
ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
DESCRIPCIÓN	TABLETA OBLONGA RECTANGULAR DE COLOR BLANCO CON RANURA CENTRAL EN UNA DE LAS CARAS	CONFORME
PESO PROMEDIO	794 mg \pm 5 % 754,3 mg - 833,7 mg	793,7 mg
DISOLUCIÓN EN 30 MINUTOS	NO MENOS DE 80 % (Q)	100%, 100%, 101% 100%, 101%, 99%
IDENTIFICACIÓN CIPROFLOXACINO CLORHIDRATO	<i>A. Cromatografía líquida:</i> El tiempo de retención del pico principal de la solución muestra corresponde al de la solución estándar según se obtienen en la valoración. <i>B. Absorción en el ultravioleta:</i> El espectro UV del pico principal de la solución muestra corresponde al de la solución estándar según se obtienen en la valoración.	CONFORME
VALORACIÓN CIPROFLOXACINO mg / Tab. Rec. CIPROFLOXACINO %	450,0 mg/Tab.Rec. - 550,0 mg/Tab.Rec. 90,0 % - 110,0 %	518,6 mg / Tab. Rec. 107,7 %
IMPUREZAS ORGÁNICAS		
- Análogo etilendiamínico de Ciprofloxacino	No más de 0,5 %	0,1 %
- Análogo 7-cloro-6-piperazinílico	No más de 0,3 %	0,0 %
- Clorociprofloxacino	No más de 0,2%	n.d. (*)
- Cualquier impureza individual no especificada	No más de 0,2%	0,1 %
- Impurezas totales	No más de 1,0%	0,2 %
UNIFORMIDAD DE UNIDADES DE DOSIFICACIÓN - VALOR DE ACEPTACIÓN (AV)	Menor o igual a 15,0 % (L1)	3,1 %
DISOLVENTES RESIDUALES - CLASE 3 Etanol	No más de 3 000 ppm	344 ppm
EXAMEN MICROBIOLÓGICO:		
- RECUENTO TOTAL DE MICROORGANISMOS AEROBIOS	Máximo 10 ³ UFC / g	< 10 UFC / g
- RECUENTO TOTAL COMBINADO DE HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS	Máximo 10 ² UFC / g	< 10 UFC / g
- PRUEBA DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS <i>Escherichia coli</i>	Ausente / g	Ausente / g
OBSERVACIONES: (*) ¹ suplemento USP 40 / (*) n/d: No Detectable / Se incluye ensayo de Disolventes Residuales según Capítulo General Disolventes Residuales <467> USP vigente, debido a que: No utiliza en el proceso de manufactura la materia prima Etanol Se ha aplicado un procedimiento acumulativo para calcular los niveles de Disolventes Residuales en el producto a partir de los niveles en las materias primas utilizadas en el proceso de manufactura del producto, obteniendo resultados por debajo de los límites de aceptación según Capítulo General Disolventes Residuales <467>.		
CONCLUSIÓN: APROBADO ANALISTA Q.F. MORGIDA/ECUZ REFE. DE CONTROL DE CALIDAD Q.F. ENRIQUE HOYOS C.Q.F.P. 20104	FECHA: 2018.04.10 LABORATORIO MEDROCK CORPORATION S.A.C. Q.F. JUAN MARTÍN VARGAS V. DIRECTOR TÉCNICO C.Q.F.P. 05543	000050

Anexo N° 6: Obtención de la Muestra Biológica

A.- Zona de colección de la *Moringa oleífera*



B.- Recolección de las hojas de *Moringa oleífera*



C.- Selección de la muestra de Moringa oleífera



D.- Lavado de la muestra de Moringa oleífera



E.- Secado de la muestra de Moringa oleífera



F.- Triturado de la muestra de Moringa oleífera



Anexo N° 7: Obtención del Aceite esencial de *Moringa oleífera*

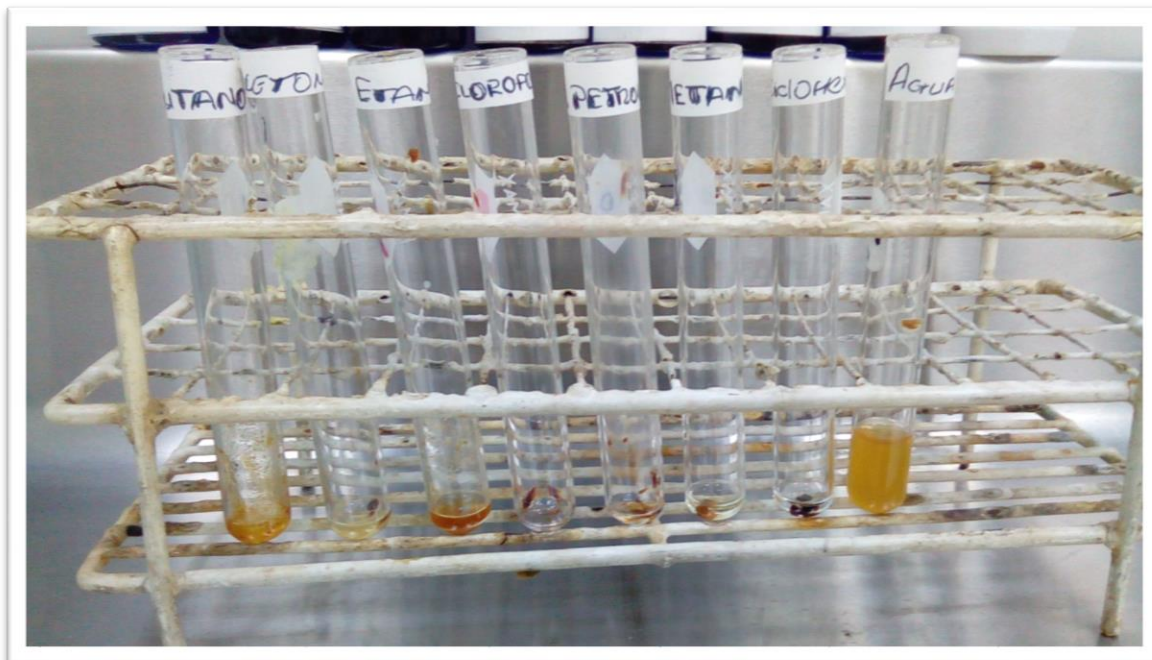
A.- Preparación del equipo de destilación por arrastre de vapor



B.- Obtención del Aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera*



Anexo N° 8: Prueba de Solubilidad



En la prueba de solubilidad se observó que el aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* es soluble en acetona, etanol, cloroformo y éter etílico.

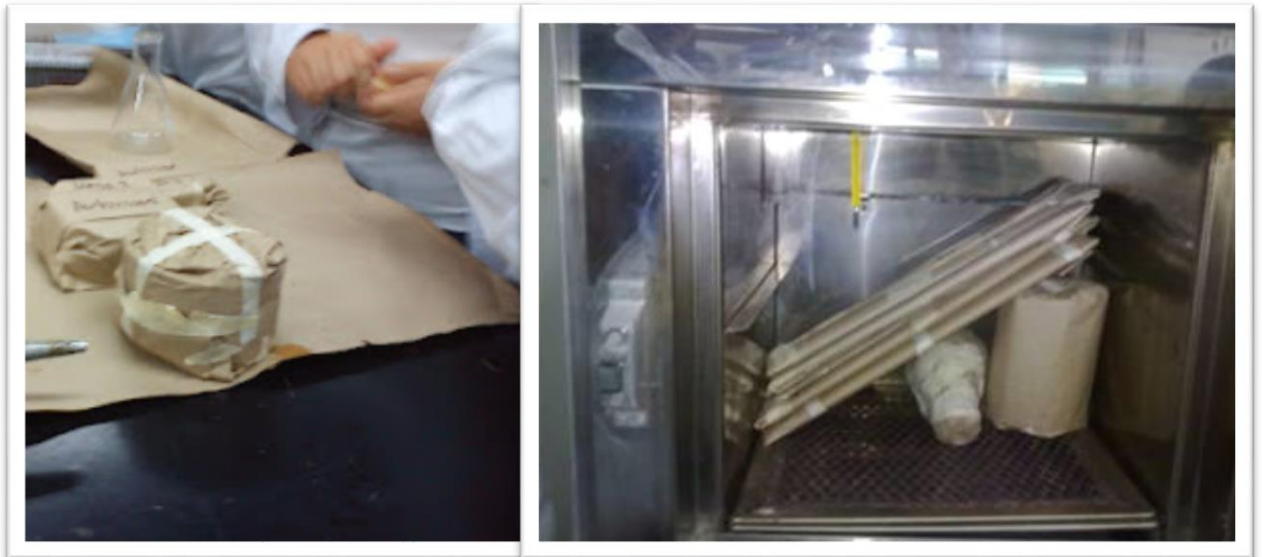
Anexo N° 9: Marcha Fitoquímica



En la marcha fitoquímica se observa la presencia de metabolitos secundarios tales: flavonoide, fenoles, alcaloides, aminoácidos, esteroides, antocianinas, triterpenoides, glicósidos y cumarinas

Anexo N° 10: Actividad Antibacteriana

A.- Esterilización de materiales



B.- Preparación de los inóculos



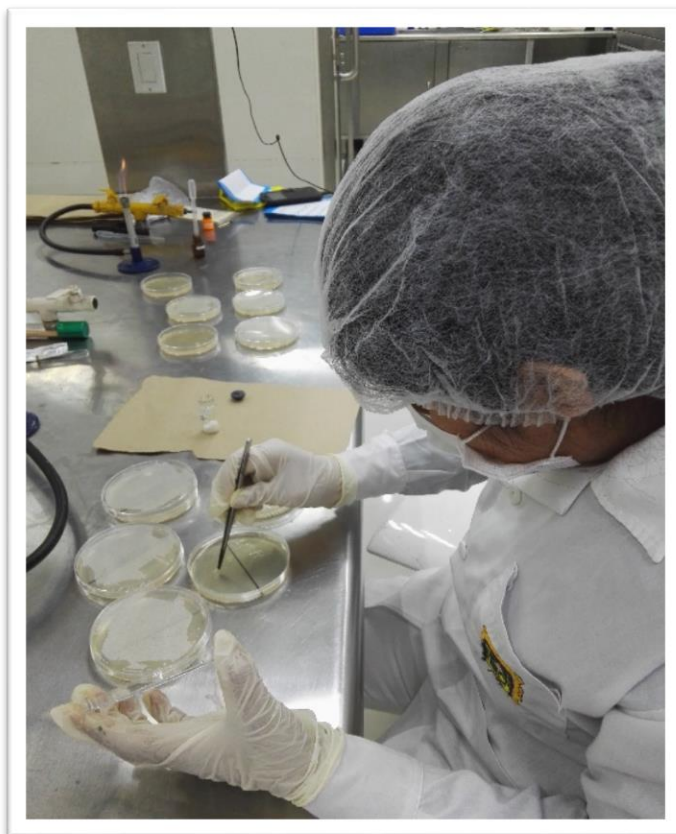
C.- Preparación de las placas Petri



D.- Siembra de la bacteria



E.- Colocación de los discos



F.- Incubación de las placas



G.- Lectura de las placas



Anexo N° 11: Juicio de expertos



VALIDACION DE INSTRUMENTOS

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DE INSTRUMENTOS

FICHA DE OBSERVACION ADHOC DE RECOLECCION DE DATOS

“Actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*”

Después de revisado el instrumento es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

- | | MENOS DE:
50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100 |
|--|---|
| 1.- ¿En qué porcentaje estima que con estos instrumentos se lograrán los objetivos propuestos? | () () () () () () <input checked="" type="checkbox"/> |
| 2.- ¿En qué porcentaje considera que las tablas están referidos a los conceptos del tema? | () () () () () () <input checked="" type="checkbox"/> |
| 3.- ¿En qué porcentaje cree que las tablas planteadas son suficientes para lograr los objetivos | () () () () () () <input checked="" type="checkbox"/> |
| 4.- ¿En qué porcentaje estima que las tablas del instrumento son de ejecución viable | () () () () () () <input checked="" type="checkbox"/> |
| 5.- Que porcentaje considera que las tablas siguen una secuencia lógica | () () () () () () <input checked="" type="checkbox"/> |
| 6.- ¿En qué porcentaje cree usted que con los instrumentos ¿Se obtendrán datos similares si se replicara con otras muestras? | () () () () () () <input checked="" type="checkbox"/> |

SUGERENCIAS:

- 1.- ¿Que ítems considera usted que deben agregarse?
.....
- 2.- ¿Que ítems considera usted que deben eliminarse?
.....
- 3.- ¿Que ítems considera usted que deben reformularse o precisarse mejor?
.....

Fecha 20/11/2018

Validado por: Mg. Pedro Jacinto Herrera

Firma:
Mg. Pedro Jacinto Herrera
C.O.P. 17187



VALIDACION DE INSTRUMENTOS

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DE INSTRUMENTOS

FICHA DE OBSERVACION ADHOC DE RECOLECCION DE DATOS

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de Moringa oleífera (Moringa) frente a las cepas de Staphylococcus aureus

Después de revisado el instrumento es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

- 1.- ¿En qué porcentaje estima que con estos instrumentos se lograrán los objetivos propuestos?
2.- ¿En qué porcentaje considera que las tablas están referidos a los conceptos del tema?
3.- ¿En qué porcentaje cree que las tablas planteadas son suficientes para lograr los objetivos
4.- ¿En qué porcentaje estima que las tablas del instrumento son de ejecución viable
5.- Que porcentaje considera que las tablas siguen una secuencia lógica
6.- ¿En qué porcentaje cree usted que con los instrumentos ¿Se obtendrán datos similares si se replicara con otras muestras?

SUGERENCIAS:

- 1.- ¿Que items considera usted que deben agregarse?
2.- ¿Que items considera usted que deben eliminarse?
3.- ¿Que items considera usted que deben reformularse o precisarse mejor?

Fecha

Validado por:

Firma:
DR. Natividad Vilchez Córdova



VALIDACION DE INSTRUMENTOS

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUIMICA

HOJA DE VALIDACION DE INSTRUMENTOS

FICHA DE OBSERVACION ADHOC DE RECOLECCION DE DATOS

“Actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*”

Después de revisado el instrumento es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:


- | | |
|--|---|
| | MENOS DE:
50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100 |
| 1.- ¿En qué porcentaje estima que con estos instrumentos se lograrán los objetivos propuestos? | () () () () () () |
| 2.- ¿En qué porcentaje considera que las tablas están referidos a los conceptos del tema? | () () () () () () |
| 3.- ¿En qué porcentaje cree que las tablas planteadas son suficientes para lograr los objetivos | () () () () () () |
| 4.- ¿En qué porcentaje estima que las tablas del instrumento son de ejecución viable | () () () () () () |
| 5.- Que porcentaje considera que las tablas siguen una secuencia lógica | () () () () () () |
| 6.- ¿En qué porcentaje cree usted que con los instrumentos ¿Se obtendrán datos similares si se replicara con otras muestras? | () () () () () () |

SUGERENCIAS:

- 1.- ¿Que ítems considera usted que deben agregarse?
.....
- 2.- ¿Que ítems considera usted que deben eliminarse?
.....
- 3.- ¿Que ítems considera usted que deben reformularse o precisarse mejor?
.....

Fecha

Validado por:

Firma:

 Q.F. OSCAR FLORES LÓPEZ
 C-Q-F-P 19190



“Actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (Moringa) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*”

METODO OLGA LOCK DE UGAZ

COMPUESTOS	REAC. DE IDENTIFICACION	MODUS OPERANTIS	REAC. POSITIVA	RESULTADO
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE FENÓLES	Solución de tricloruro férrico	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Coloración verde o azul	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE TANINOS	Solución de gelatina en suero fisiológico	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Precipitado denso blanco	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE FLAVONOIDES	Solución de magnesio metálico en ácido clorhídrico concentrado. Shinoda.	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	<i>Chalconas, auronas, isoflavanonas</i> : No hay coloración. <i>Isoflavanonas</i> : Amarillo rojizo. <i>Flavonoles</i> : Rojo a magenta. <i>Flavonas y flavonoles</i> : Amarillo a rojo	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE ANTOCIANINAS Y FLAVONOIDES CATÉQUICOS	Solución de yoduro de potasio con yodo metálico. Rosenheim	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Coloración rojo oscuro	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS LIBRES Y GRUPOS AMINO	Solución de alcohol etílico con Ninhidrina 0.1g	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Coloración violácea	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE ALCALOIDES	Solución de yoduro potásico-bismútico. Dragendorff	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Precipitado naranja	
	Solución de yoduro potásico mercúrico Mayer	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Precipitado blanco	
	Solución de ácido silícico Bertrand	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Precipitado blanco	
	Solución de ácido fosfomolibdico Sonnenschein	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Precipitado amarillo-verdoso	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Solución de hidróxido de sodio al 5g Borntager	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Coloración roja	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE TRITERPENOIDES Y ESTEROIDES	Lieberman-Burchard	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	<i>Esteroides</i> : verde-azul <i>Triterpenoides</i> : rojo-naranja	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE SAPONINAS	Agua destilada	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Formación de 0.5 a 1 cm de espuma estable por 15 min.	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE GLICÓSIDOS	Baljet	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Coloración anaranjada	
PARA COMPUESTOS DERIVADOS DE CUMARINAS	Bases fuertes de NH ₄ OH cc ó NaOH 10%	“0.5 ml de muestra problema más el reactivo”	Fluorescencia celeste	

Leyenda:

La coloración o precipitado no se evidencia	(0)
La coloración o precipitado se evidencia poco	(+)
La coloración o precipitado se evidencia moderadamente	(++)
La coloración o precipitado se evidencia notablemente	(+++)

**“ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE
ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *MORINGA OLEÍFERA* (MORINGA)
FRENTE A LAS CEPAS DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*”
METODO DE KIRBY BAUER**

CONCENTRACION (%) DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE <i>MORINGA OLEÍFERA</i> (MORINGA)		CONTROLES			
		CIPROFLOXACINO ug		DIMETILSULFÓXIDO	
N° DE PLACAS	LONGITUD DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm)				
	25%	50%	75%	5 ug	100ul
PLACA 1					
PLACA 2					
PLACA 3					
PLACA 4					
PLACA 5					
PLACA 6					

Anexo N° 11: Matriz de Consistencia

Actividad Antimicrobiana in vitro del Aceite Esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>						
MATRIZ DE CONSISTENCIA						
PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>GENERAL</p> <p>¿Cuál será el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>GENERAL</p> <p>Determinar cuál será el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>GENERAL</p> <p>El aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) presenta un efecto antimicrobiano en cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>V.I</p> <p>Aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa)</p>	<p>Marcha Fitoquímica</p> <p>Prueba de Solubilidad</p> <p>Concentraciones del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa)</p>	<ul style="list-style-type: none"> Alcaloides Flavonoides C. Fenólicos Taninos Terpenos <ul style="list-style-type: none"> Insoluble Poco soluble Moderadamente Totalmente <ul style="list-style-type: none"> 25%, 50% y 75% 	<p>Diseño: Experimental in vitro</p> <p>Tipo: Descriptivo, analítico y transversal.</p> <p>Nivel: aplicativo</p> <p>Población:</p> <ul style="list-style-type: none"> Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <p>Muestra</p> <ul style="list-style-type: none"> 30 placas Petri con Müller Hinton cultivadas con Cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <p>Instrumento: ficha de observación ad-hoc</p> <p>Procesamiento y análisis de datos: Análisis descriptivo e inferencial con los programas Excel mediante pruebas:</p> <ul style="list-style-type: none"> Anova Tukey T de 1 muestra Anderson Darling
<p>ESPECIFICO</p> <p>1. ¿Qué metabolitos secundarios están presentes en el aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa)?</p> <p>2. ¿Qué concentración del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) presenta efecto antimicrobiano frente a la cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>3.- ¿Cuál es el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) comparado con el fármaco Ciprofloxacino?</p>	<p>ESPECIFICO</p> <p>1. Identificar los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa).</p> <p>2. Determinar la concentración del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) que tendrá efecto antimicrobiano sobre cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>3. Comparar el efecto antimicrobiano del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) con el efecto del fármaco Ciprofloxacino.</p>	<p>ESPECIFICO</p> <p>1. Existen metabolitos secundarios con mayor concentración en el aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa).</p> <p>2. Existe una concentración del aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) que posee efecto antimicrobiano frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>3. El aceite esencial de las hojas de <i>Moringa oleifera</i> (Moringa) presenta mayor efecto antimicrobiano en comparación con el fármaco Ciprofloxacino</p>	<p>V.D</p> <p>Efecto antimicrobiano frente a cepa de <i>Staphylococcus aureus</i></p>	<p>Método de Macro Difusión</p>	<p>Diámetros de Inhibición medidos con regla en mm, (según Kirby-Bauer Biomédica)</p> <ul style="list-style-type: none"> Nula (-) si el diámetro es menor a 8 mm Sensible (+) si el diámetro esta entre 8 a 14 mm Muy Sensible (++) si el diámetro esta entre 14 a 20 mm Sumamente Sensible (+++) si el diámetro es mayor a 20 mm 	<p>Instrumento: ficha de observación ad-hoc</p> <p>Procesamiento y análisis de datos: Análisis descriptivo e inferencial con los programas Excel mediante pruebas:</p> <ul style="list-style-type: none"> Anova Tukey T de 1 muestra Anderson Darling