

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
NUEVOS TIEMPOS NUEVAS IDEAS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA



TESIS

“Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo), frente a *Staphylococcus epidermidis*, por la técnica de Kirby-Bauer”

Para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico

TESISTAS:

BACH. ROMERO VERAMENDI, ASTRID ROSMERY
BACH. BALDEÓN MENDOZA, ISABEL VICTORIA

ASESOR:

Dr. Q.F. HECTOR VÍLCHEZ CÁCEDA

Lima – Perú

2019

DEDICATORIAS

A mis padres Marcelina y Gerardo, por ser el pilar fundamental en mi vida, por sus valiosas enseñanzas y motivarme a cumplir uno de mis grandes objetivos.

A mis queridos hermanos, por brindarme su apoyo incondicional en todo momento.

Astrid Romero Veramendi

A Dios, por darme la vida y ser tan bondadoso conmigo al brindarme todo lo que tengo.

A mis queridos padres Rosa y Jorge, por su arduo trabajo buscando la unión familiar y por creer en todo momento en mi capacidad de superación.

A mis queridos hermanos porque juntos aprendimos que la vida te brinda las oportunidades y sólo depende de uno ir tras ellas para un bienestar mejor.

A mi amado esposo Jesús Valverde Chi, por tantos años de valioso apoyo, motivación y perseverancia en que pueda surgir y ser feliz en todo lo que haga.

Y a la personita más importante de mi vida, mi amada hija Isabella Mariam.

Isabel Baldeón Mendoza

AGRADECIMIENTO

A Dios por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente para lograr mis objetivos.

Al Dr. Q.F. Héctor Vílchez Cáceda, nuestro asesor de tesis.

A todos los docentes que nos brindaron sus conocimientos para poder ser buenos profesionales.

Astrid Romero Veramendi

A Dios, por su infinita sabiduría, por ser la mano firme que me sostiene día a día, por ir a mi lado escuchándome hasta cuando no emane palabras, por estar en mi corazón, por la vida, mi familia, mi amado esposo, mi hija, mi trabajo y la felicidad de culminar cada objetivo planteado.

A nuestro asesor de tesis Dr. Q.F. Héctor Vílchez Cáceda, por su valioso tiempo, consejos y por cada acto en beneficio de nuestro crecimiento profesional.

Un especial agradecimiento a mis maestros que sabiamente fueron impartiendo sus valiosos conocimientos, a Uds. loables y admirables maestros mil gracias.

Isabel Baldeón Mendoza

“Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo), frente a *Staphylococcus epidermidis*, por la técnica de Kirby-Bauer”

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria	
Agradecimientos	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
Introducción	
CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1 Descripción de la realidad problemática	2
1.2 Formulación del problema	3
1.2.1 Problema General	3
1.2.2 Problemas Específicos	3
1.3 Objetivos	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivos Específicos	3
1.4 Justificación e importancia del estudio	4
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	5
2.1 Antecedentes del Estudio	5
2.1.1 Nacionales	5
2.1.2 Internacionales	8
2.2 Bases teóricas	11
2.2.1 <i>Aspectos Botánicos de Tropaeolum majus L.</i>	11
2.2.1.1 Historia	11
2.2.1.2 Etnobotánica	11
2.2.1.3 Sinonimia	11
2.2.1.4 Taxonomía	12
2.2.1.5 Distribución geográfica	12
2.2.1.6 Descripción de la planta	13

2.2.1.7 Composición química	16
2.2.2. Características de los <i>Staphylococcus</i>	17
2.2.2.1 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	17
2.2.3 Actividad antimicrobiana	18
2.2.3.1 Concepto	18
2.2.3.2 Principios de la terapia antimicrobiana	18
2.2.3.3 Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)	19
2.3 Hipótesis	20
2.3.1 Hipótesis general	20
2.3.2 Hipótesis específicas	20
2.4 Variables	20
2.4.1 tabla de Operacionalización de variables	20
2.5 Marco conceptual	21
CAPÍTULO III: MÉTODO	24
3.1 Tipo de estudio	24
3.2 Diseño a utilizar	24
3.2.1 Material biológico	24
3.2.2 Materiales e instrumentos de laboratorio	24
3.2.3 Insumos	25
3.2.4 Equipos	25
3.2.5 Estudio fitoquímico	26
3.2.6 Estudio macroscópico	26
3.3 Población	26
3.4 Muestra	26
3.5 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	26
3.5.1 Técnica de recolección de datos	26
3.5.2 Instrumentos de recolección de datos	27
3.6 Procesamiento de datos	27
3.6.1 Identificación de las muestras de estudio	27
3.6.2 Recolección de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (mastuerzo)	27
3.6.3 Solubilidad y análisis de compuestos químicos (metabolitos)	29
3.6.4 Reactivación de las bacterias	30

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	35
4.1 Presentación de resultados	35
4.2 Contrastación de hipótesis	41
4.2.1 Hipótesis general	41
4.2.2 Hipótesis específica	41
4.3 Discusión de resultados	42
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	45
5.1 Conclusiones	45
5.2 Recomendaciones	46
Bibliografía	47

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Valor nutricional de las hojas de mastuerzo	16
Tabla 2.	Metabolitos del mastuerzo	16
Tabla 3.	Operacionalización de variables	20
Tabla 4.	Determinación de metabolitos	29
Tabla 5.	Presentación de resultados – Marcha Fitoquímica	35
Tabla 6.	Actividad antibacteriana de <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228.	36
Tabla 7.	Estadística inferencial de los datos de cada extracto.	37
Tabla 8.	Prueba de homogeneidad de varianza de la eficacia antibacteriana de extracto de mastuerzo, in vitro	38
Tabla 9.	Prueba de Anova de un factor de la eficacia antibacteriana de extracto de mastuerzo, in vitro	38
Tabla 10.	Prueba de Tukey de comparaciones múltiples de la eficacia antibacteriana de extracto de mastuerzo, in vitro	39
Tabla 11.	Prueba de Tukey de subconjunto de datos de la eficacia Antibacteriana de extracto de mastuerzo, in vitro.	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Crecimiento de mastuerzo en el Perú	13
Figura 2.	Planta <i>Tropaeolum majus</i> L. (mastuerzo)	14
Figura 3.	Hojas de <i>Tropaeolum majus</i> L. (mastuerzo)	15
Figura 4.	Flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (mastuerzo)	15
Figura 5.	Cultivo de <i>Tropaeolum majus</i> L (mastuerzo)	15

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia	52
Anexo 2. Testimonio fotográfico	53
Anexo 3. Certificado Taxonómico	60
Anexo 4. Certificado de la cepa <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	61
Anexo 5. Certificado de Agar Mueller Hinton	62
Anexo 6. Protocolo de Análisis N° 00537-CPF-2018	63
Anexo 7. Protocolo de Análisis N° 00533-CPF-2018	64
Anexo 8. Validación de instrumentos	65
Anexo 9. Ficha de validación por juicio de expertos	66

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto de *Tropaeolum majus* L. "mastuerzo", en cepas de *Staphylococcus epidermidis*. El extracto se obtuvo por maceración con etanol al 40% durante una semana. Se realizó la prueba de susceptibilidad, utilizando el método de difusión en discos. Las cepas fueron sembradas en placas con agar Mueller Hinton, se colocaron discos embebidos con las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% del extracto. Las placas se incubaron a 37°C por anaerobiosis, midiéndose los halos después de las 24 horas, todos los días presentaron halos de inhibición, cuyo tamaño aumentó en relación directamente proporcional a las concentraciones utilizadas, evidenciándose un mayor diámetro de halo de inhibición al 40% del extracto de 16 mm. Para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) se utilizó el método de macrodilución en tubos utilizando 10 concentraciones, a partir del extracto que presentó mayor halo de inhibición; donde se obtuvo el CMI de 8,75% (v/v) y la concentración mínima bacteriana (CMB) se obtuvo por el método de siembra por superficie en agar nutritivo, obteniéndose un CMB de 17.5% (v/v). Se concluye que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. presenta efecto antibacteriano *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus epidermidis*.

Palabras clave: *Staphylococcus epidermidis*; efecto antibacteriano; extracto etanólico; *Tropaeolum majus* L.; mastuerzo.

ABSTRACT

The present work aimed to determine the in vitro antibacterial activity of the extract of *Tropaeolum majus* L. "garden nasturtium", in strains of *Staphylococcus epidermidis*. The extract was obtained by mashing with ethanol at 40% for one week. The susceptibility test was performed, using the method of diffusion on discs. The strains were seeded on plates with Mueller Hinton agar, embedded discs with concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% of the extract were placed. The plates were incubated at 37 ° C by anaerobiosis, measuring the halos after 24 hours, every day they presented halos of the inhibition, whose size increased in relation directly proportional to the concentrations used, evidencing a larger diameter of inhibition halo at 40 % of the extract of 16 mm. To determine the minimum inhibitory concentration (MIC), the macrodilution method was used in tubes using 10 concentrations, from the extract that presented the greatest inhibition halo; where the MIC of 8.75% (v / v) was obtained and the minimum bacterial concentration (CMB) was obtained by the method of planting by surface in nutritive agar, obtaining a CMB of 17.5% (v / v). It is concluded that the ethanol extract of *Tropaeolum majus* L. has an antibacterial effect in vitro on strains of *Staphylococcus epidermidis*.

keywords: *Staphylococcus epidermidis*; antibacterial effect; ethanolic extract; *Tropaeolum majus* L .; cress.

INTRODUCCIÓN

A nivel mundial, la medicina tradicional representa un complemento esencial en la práctica médica correspondiente a la cultura de cada pueblo, por ello, la presente investigación trata de establecer la actividad antibacteriana de las flores de la especie vegetal llamada mastuerzo, conocido científicamente con el nombre de *Tropaeolum majus* L., planta medicinal empleada como alternativa terapéutica.

Tomando en consideración las prácticas médicas del pasado y que actualmente requieren un estudio, tenemos especies vegetales como el mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) que por su gran capacidad de adaptabilidad y rusticidad crece en muchas partes del mundo, es distinguida por sus propiedades medicinales, ha sido usada como antiséptico, diurético, su aplicación externa se emplea en tratamientos de la piel en dermatitis, quemaduras y descamación.

Los grupos bacterianos como los estafilococos se caracterizan por ser microorganismos oportunistas que tienen la capacidad de infectar, persistir y replicarse en cualquier tejido. Las cepas de *Staphylococcus epidermidis*, se encuentran colonizando constantemente la piel por lo que están expuestas a todas las terapias con antibióticos.

Por ello, esta investigación sobre el extracto de las flores de *Tropaeolum majus* L. es utilizada por las diferentes comunidades al poseer diversas propiedades como antimicótico, antibacteriano, antiinflamatorio, en resfriados, en desinfección y cicatrización de heridas, pero de la cual no se han realizado análisis para determinar el porqué de estas actividades.

En este estudio, se pretende determinar si el extracto de las flores del mastuerzo tiene actividad antibacteriana y pueda ser empleada para tal.

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Descripción de la realidad problemática

Se considera que las bacterias son microorganismos con alto grado de patogenicidad; ya que, es un agente patógeno causante de innumerables infecciones y enfermedades en todo ámbito; tanto en la comunidad como a nivel hospitalario.

En la actualidad, el sistema de salud del Perú se caracteriza por ser muy deficiente, con una amplia limitación de cobertura de las demandas de la comunidad y zonas rurales más alejadas del Estado Peruano, cabe mencionar también la falta de centros de salud en los lugares alejados como en zonas rurales, asimismo el cuidado de la salud de la población en general se agrava cada vez más, ya que estas comunidades no cuentan con recursos necesarios, y a la vez la dotación de medicamentos es insuficiente, de modo que se convierte en un problema de salud pública .⁽¹⁾

El pasar de los días al no tener una pronta respuesta de las autoridades sanitarias en busca de un mayor control de estos focos infecciosos, la población se ve directamente perjudicada al no tratar a tiempo los diversos tipos de infecciones, patologías que posteriormente pueden acarrear la tan temida resistencia bacteriana, es en estos casos donde nuestras especies vegetales surgen una vez más como una alternativa natural sobre todo por parte de la población rural, especie vegetal como es el caso del mastuerzo; flores y hojas empleadas con muchos años de antelación para curar y/o tratar diversas patologías infecciosas, por ello, se plantea la interrogante en la presente investigación ¿El extracto etanólico de las flores de

Tropaeolum majus L. (mastuerzo) presentará actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis*?, en esta investigación se quiere encontrar alternativas de tratamiento con recursos vegetales sobre todo para las comunidades rurales y de escasa economía que no cuentan con el acceso a la amplia gama de medicamentos.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) presentará actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis*?

1.2.2. Problemas específicos

1. ¿Qué tipo de metabolitos secundarios presentará el extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo)?
2. ¿La concentración al 25%, 50%, 75% y al 100% del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo), presentará actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis*?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) frente a *Staphylococcus epidermidis*.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo).
2. Determinar la actividad antibacteriana de las concentraciones al 25%, 50%, 75% y al 100% del extracto etanólico de las

flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) frente a *Staphylococcus epidermidis*.

1.4. Justificación e importancia del estudio

La presente investigación se justifica en brindar el debido sustento científico al uso adecuado de productos naturales ampliando el bagaje cultural y popular de la ciudadanía respecto al empleo de especies vegetales y su importancia en la terapéutica.

Las plantas medicinales son valiosas como recursos para tratar muchas enfermedades, por lo cual, merecen un interés especial, ya que son capaces de contribuir a la sociedad y al país mediante su uso adecuado, fomentando con ello la disminución de resistencia bacteriana producto del descontrolado uso de antibióticos.

Es por ello, que surge la necesidad de realizar un estudio experimental, basado en la comprobación de la eficacia antibacteriana del extracto etanólico de las flores del mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) frente a *Staphylococcus epidermidis*, brindando con ello; la administración de medicina tradicional que podría mejorar el acceso a la atención de salud inmediata.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

Los antecedentes nacionales e internacionales son los siguientes:

2.1.1 Nacionales

Naranjo M, et al. (2017), realizaron la investigación titulada “Eficacia antimicrobiana *in vitro* del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre cepa certificada de *Staphylococcus aureus*”, en la región Trujillo, con el objetivo de evaluar *in vitro* la eficacia antimicrobiana del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris*), se empleó el método de difusión en disco (Kirby-Bauer), se evaluaron concentraciones al 50%, 75% y 100% en dilución en etanol al 96,8%, los resultados indican que el extracto de tomillo fue altamente eficaz inhibiendo el crecimiento bacteriano con halos de inhibición de 15,10 mm, 19,20 mm y 23,40 mm, mientras que el mastuerzo no dio ningún resultado favorable. Los autores concluyeron la determinación de la eficacia antimicrobiana *in vitro* del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre la cepa de *Staphylococcus aureus*, demostrando que el extracto de tomillo fue altamente eficaz inhibiendo el crecimiento bacteriano sobre dicha cepa, mientras que el mastuerzo no dio ningún resultado favorable. ⁽²⁾

Tenorio A. y Estrada J. (2016) El presente estudio tuvo como objetivo determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” a concentraciones de 30%, 40% y 50% sobre *Escherichia coli* aislada en pacientes con infecciones del tracto urinario. Se

trabajó con 5 cepas de *Escherichia coli*, 3 concentraciones (30%, 40%, 50%) del extracto etanólico y 9 repeticiones por cada interacción, el número total de observaciones fue de 135 unidades experimentales. La identificación de *E. coli* se realizó según la metodología de Sacsquispe y Ventura, 2001 y para la determinación del efecto inhibitorio se utilizó el método modificado de difusión de Kirby Bauer (Kinsbruy et al., 1991). El extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” a concentraciones de 30%, 40% y 50% produjo halos de inhibición promedios de 20.11, 23.57 y 26.55 mm en las cepas de *Escherichia coli*. Se concluye que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” tiene efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Escherichia coli*, el cual es estadísticamente dependiente de la cepa de *E. coli* y de las concentraciones del extracto.⁽³⁾

Bastidas Y., Llacua (2018) En el presente trabajo se estudió la cantidad de fenoles totales presentes en los extractos metanólicos de las flores de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) a través de la prueba de Folin ciocalteau, los extractos se obtuvieron de la maceración con metanol durante 48 horas en refrigeración, y concentrados al vacío en un rota evaporador a 40°C. Encontrando que las flores de mastuerzo tienen cantidades significativas de fenoles, siendo el extracto metanólico de mastuerzo rojo que presentó mayor cantidad siendo ésta de 688.21 mg GAJ ml de extracto, significando que la concentración de cada compuesto fenólico varía de acuerdo al color de la flor. Se realizaron extracciones de metabolitos secundarios de flores de *Tropaeolum majus* L., usando como solvente etanol y se identificó la presencia de quinonas, taninos, como principales constituyentes. Se reportó la actividad antifúngica de extractos obtenidos de flores (amarillo, anaranjado y rojo) de Mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.), cuyas muestras fueron colectadas en el cerrito de la Libertad y

Quichuay en la provincia de Huancayo. Se estudió la actividad antimicrobiana con el método de Kirby Bauer o disco difusión. La cepa utilizada fue *Penicilium* sp., que fue aislada del pan con moho verde, lo cual mostró actividad antimicrobiana del extracto metanólico de flores frente a *Penicillium* sp (8 a 15mm). Siendo el extracto metanólico de flor roja de mastuerzo quien mostró un mayor diámetro de inhibición a una concentración del 100 % y por último se comparó la concentración mínima inhibitoria de los extractos, teniendo como resultado que la CMI del mastuerzo rojo es de 60%, y del mastuerzo amarillo y anaranjado es de 70%.⁽⁴⁾

Saavedra R. (2018) En esta investigación se determinó la actividad antifúngica *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* tanto en forma de levadura como de filamento. Se trabajó para cada forma de crecimiento en una placa control y cinco placas problema con agar Sabouraud como medio de cultivo; a las placas problema se agregó el extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. a concentraciones de 5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{L/mL}$, se procedió a la siembra del hongo *Sporothrix schenckii* y posteriormente se incubaron a 37 °C por 48 horas para determinar la actividad antifúngica en forma de levadura y a 25 °C por 15 días para la forma de filamento. Los resultados se contrastaron y compararon con la prueba estadística U de Mann – Whitney, obteniéndose para ambas formas de crecimiento de *Sporothrix schenckii* un valor de $p = 0,25$ en todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico (5, 10, 20, 40 y 80 $\mu\text{L/mL}$), indicando diferencia significativa; sin embargo, al comparar las placas problemas entre sí, se obtuvo un valor de $p = 1,00$, mostrando que no existe diferencia significativa; concluyéndose que el extracto hidroalcohólico tiene actividad antifúngica *in vitro* frente a *Sporothrix schenckii* en sus dos formas de crecimiento.⁽⁵⁾

2.1.2. Internacionales

Cabeza G. (2014) Se evaluó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de Mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) a diferentes concentraciones, en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Se realizó el control de calidad de la droga cruda y del extracto hidroalcohólico, utilizado para la evaluación del efecto cicatrizante en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*), considerando el tiempo de cicatrización y la longitud final de la cicatriz, los resultados fueron analizados estadísticamente con un intervalo del 95% de confianza, por medio de los test Anova y Tuckey, mediante análisis físicoquímico del extracto hidroalcohólico se pudo determinar que posee un pH 6,45; densidad relativa 0,9652; índice de refracción 1,358 y sólidos totales 1,49 %. En la cuantificación de compuestos fenólicos se obtuvo un valor de 821,37 expresados como µg de ácido gálico/g de muestra; se cuantificó flavonoides totales obteniéndose un valor de 30,89 expresados como µg de catequina/g de muestra. Se concluye que el extracto hidroalcohólico de Mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) resulta eficaz aplicado en heridas inducidas, con mayor efecto en concentración al 80%, presentando cicatrización en 10 días, con una longitud de la cicatriz de 1.4 cm. ⁽⁶⁾

Mira J. (2017) El trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar *in vitro* la eficacia antimicrobiana del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre *Staphylococcus aureus*. Se evaluaron concentraciones al 1%, 5%, 10%, 30%, 50%, 70% y 90% en dilución en etanol al 96,8%. Se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria mediante el método de microdilución en caldo, el inóculo bacteriano se estandarizó al 0.5 de la escala de MacFarland en espectrofotómetro, teniendo como resultado que el tubo al 1% de aceite de tomillo no presentó turbidez, el cual al ser sembrado

en agar Mueller-Hinton determinó la Concentración Bactericida Mínima en la que no se observó crecimiento de colonias; por otro lado el extracto de mastuerzo evidenció turbidez en todas sus diluciones por lo que no cuenta con actividad antimicrobiana. La aplicación del análisis de varianza dio como resultado que los tratamientos al 5% y 10% no son significativamente diferentes. ⁽⁷⁾

Márquez R. (2018) El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antioxidante y antiinflamatoria *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de hojas y flores de capuchina (*Tropaeolum majus* L.). Una vez recolectadas las hojas y las flores se secaron y trituraron por separado. Para obtener los extractos, hojas y flores se maceraron con etanol al 70% v/v, y finalmente se concentraron en evaporador rotatorio en condiciones controladas, para posteriormente liofilizar los residuos, y obtener así los extractos hidroalcohólicos. Se cuantificó los flavonoides espectrofotométricamente a través del método del Tricloruro de Aluminio, obteniendo los siguientes resultados: 16817,714± 94,026 mg Eq Q/g de extracto liofilizado para hojas y 14418,286± 188,051 mg Eq Q/g de extracto liofilizado para flores. La determinación de fenoles se realizó por el método de Folin-Ciocalteu arrojando los resultados de 11877,778± 192,450 mg Eq GAE/g de extracto liofilizado de hojas y 4438,889± 96,225 mg Eq GAE/g de extracto liofilizado de flores. Los extractos presentaron una capacidad captadora de radicales libres a una IC50 de 501,69 µg/ml con un rango que va de 354,55 - 723,87 µg/ml para las hojas y 11119,35 µg/ml con un rango entre 6985,69 - 18701,46 µg/ml para las flores, ambos evaluados por el método de DPPH'. El ensayo de actividad antiinflamatoria se llevó a cabo por el método *in vitro* de neutrófilos aislados, por medio de la determinación de una sal de tetrazolio estable (WST-1). Las hojas de *Tropaeolum majus* L., presentaron actividad antiinflamatoria a una IC50 de 835,04

µg/ml con un rango que va de 743,97 - 943,01 µg/ml, siendo más activas que las flores que mostraron un resultado de 1763,89 µg/ml con un rango entre 1436,83 - 2242,68 µg/ml. La concentración de 1000 ppm presentó mejor porcentaje de inhibición inflamatoria para hojas con 52,98% ± 1,35, mientras que para flores fue de 36,19% ± 2,41. Sin embargo, estos porcentajes son menores en comparación con el ácido acetilsalicílico usado como referencia que a 200 ppm presentó 68,88% ± 3,90. Los ensayos se realizaron por triplicado. ⁽⁸⁾

Guzmán V. (2018) Este estudio tuvo como objetivo describir el efecto del consumo de un liofilizado de capuchina (*Tropaeolum majus* L.) sobre la respuesta a la insulina y el perfil lipídico de pacientes adultos con prediabetes entre los 25 a 60 años de la ciudad de Bogotá, durante el año 2018. Materiales y métodos: Se realizó un estudio clínico aleatorizado, controlado, doble ciego con diseño cruzado, piloto donde, durante el primer periodo (1 mes), el grupo 1 recibió el tratamiento A (capuchina) y el grupo 2 recibió el tratamiento B (placebo) y durante el segundo periodo (1 mes) ambos grupos intercambiaron su tratamiento. Resultados: Durante el segundo semestre de 2018 se ingresaron 3 pacientes, quienes terminaron completamente la intervención con capuchina y con placebo. No se observaron cambios sobre la glicemia, la respuesta a la insulina y el índice de resistencia a la insulina (HOMA IR) tras el tratamiento con capuchina, sin embargo, se observó una tendencia a la reducción en el colesterol total y el colesterol LDL. Conclusiones: La ingesta de 11 g (500 µmol de glucotropaeolina o benzilglucosinolato/dosis) de capuchina por 4 semanas no modificó los valores de glicemia, ni el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR). Pero tuvo un efecto favorable sobre el perfil lipídico, al reducir en 24 mg/dl el colesterol total y el colesterol LDL en 22 mg/dl. ⁽⁹⁾

2.2. Bases Teóricas

2.2.1 Aspectos Botánicos de *Tropaeolum majus* L.

2.2.1.1. Historia

El término *Tropaeolum* deriva de una palabra griega que se traduce como “pequeño trofeo”, producto del posicionamiento de flores y hojas. En algunos lugares se les conoce como capucha de monje. Durante el siglo XVI, los jesuitas llevaron esta planta hacia Europa con fines culinarios. También es conocido denominado como mastuerzo de las Indias, berro del Perú o de los jesuitas. En 1600, fue cultivado por el botánico Dodoens ⁽¹⁰⁾.

2.2.1.2 Etnobotánica

Crece en todas las regiones del Perú inferiores a los 3,000 m.s.n.m. Este vegetal ha sido utilizado desde la etapa prehispánica. Asimismo, crece en las zonas occidentales andinas, jardines y parques.

En una de sus crónicas el Padre Bernabé Cobo escribió: “Los Indios le llaman ticsau y los españoles mastuerzo de las Indias. Los indios se dan un baño con el cocimiento de esta yerba cuando se sienten con dolor de cabeza, y si el dolor es en todo el cuerpo, se dan un baño en todo el cuerpo, de la misma forma emplean las hojas como las raíces” ⁽¹¹⁾.

2.2.1.3 Sinonimia

Al mastuerzo se le conoce como capuchina americana, espuela de galán, flor de la sangre, llagas de Cristo, marañuela, mastuerzo de Indias o pelón. Es pariente o prima de la mashua que tiene una planta y flores similares. En las zonas de costa en España se ha asilvestrado ⁽¹²⁾.

2.2.1.4 Taxonomía

La clasificación taxonómica del mastuerzo es la siguiente⁽¹³⁾:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Geraniales

Familia: Tropaeolaceae

Género: *Tropaeolum*

Especie: *Tropaeolum majus* L.

2.2.1.5 Distribución geográfica

El *Tropaeolum majus* L. es una planta que crece de manera silvestre y rastrera, aunque prefiere los suelos bien drenados, no obstante, puede crecer en suelos secos y pobres. Los lugares de abono deben ser con productos bajos en nitrógenos, pero alto en fósforo ⁽¹¹⁾.

El mastuerzo proviene de los andes de Sudamérica, es decir, en el Perú. En la actualidad se siembran plantas en todos los lugares europeos. También yace en Argentina y México⁽¹⁴⁾.



Figura 1. Crecimiento de mastuerzo en el Perú.

Fuente: <http://diversperu.blogspot.com/>

2.2.1.6 Descripción de la planta

El mastuerzo es una planta herbácea anual casi trepadora, decumbente y sub carnosa, de 0,50-1 m de altura. De los tallos crecen peciolo delgados, lisos y carnosos; de un color rojizo en la base y verde hacia la hoja. Tiene hojas alternas redondas de 4-10 cm de diámetro; peciolo largos, enrollados en espiral. Flores amarillas o anaranjadas con pedúnculos mayores que las hojas, cáliz campanulado, amarillento, de 1,2 - 1,7 cm de largo, espolón de 2-3 cm de longitud ⁽¹⁵⁾.

Los frutos están formados por tres drupas separables de 1-1,5 cm de diámetro, cuyas semillas tienen un aspecto rugoso. Pertenece a la familia de las tropaeolaceae tiene un solo género y abarca 95

especies de plantas entre tuberosas y perennes, esta familia es cultivada de forma ornamental pero generalmente crece de forma silvestre como maleza.

Su importancia radica en sus bondades medicinales para combatir múltiples dolencias, ya sea oral o de uso externo, mediante infusiones, diluciones, macerados o extractos.

El mastuerzo al ser una planta rastrera y oriunda de Sudamérica, puede también ser enredadera ⁽¹⁶⁾.



Figura N° 2: Planta entera de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo).
Fuente: Propia.



Figura N° 3: Hojas de *Tropaeolum* L. (mastuerzo).
Fuente: Propia.



Figura N° 4: Flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo).
Fuente: Propia.



Figura N° 5: Cultivo de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo).
Fuente: Propia.

2.2.1.7 Composición química

El valor nutricional de las hojas muestra un contenido alto de vitamina A (tabla N° 1):

Tabla N° 01: Valor nutricional de las hojas de mastuerzo.

ELEMENTO	PORCENTAJE
Energía	48.00
Proteína	1.80
Grasa total (g)	1.30
Glúcidos	9.20
Fibra (g)	0.50
Calcio (mg)	211.00
Hierro (mg)	1.30
Vitamina A (mg)	346.00
Vitamina C (mg)	25.20

Fuente: FUNIBER, 2017

Los metabolitos contenidos en el mastuerzo se observan en la tabla N° 2.

Tabla N° 02: Metabolitos del mastuerzo.

TIPOS DE METABOLITOS	ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA
Antocianinas	Delfinidina, cianidina, pelargonidina, pelargonidina 3-soforosa. Las antocianinas destacan por su papel de antioxidantes, contribuyendo también a una buena salud de la visión, protegiendo los capilares de la retina.
Alcaloides	Los alcaloides son sustancias orgánicas encontradas en determinados órganos vegetales. Algunas son localizadas en las hojas; otras, en las raíces y también en la corteza, aunque no faltan aquellas difundidas en toda la planta. Son sustancias de carácter básico (alcalino); de ahí deriva su nombre.
Lactonas	Tienen actividad antibacteriana y antifúngica.
Flavonoides	Quercetina, kaempferol, isoquercitina (hojas). Los flavonoides son un grupo grande de metabolitos secundarios de tipo fenólico, existiendo varios tipos como flavanonas, flavanonoles, flavonas y flavonoles entre otros, con variada actividad farmacológica entre las que destacan: antioxidante, antiinflamatoria, antiespasmódica, antimicrobiana, citoprotectora, analgésica, antiespasmódica (Citado por Aguilar, 2014, p. 408).
Aminoácidos	Productos resultantes del metabolismo primario (procesos químicos que intervienen en forma directa en la supervivencia, crecimiento y reproducción), derivados de aminoácidos.
Cardenólidos	Los cardenólidos son metabolitos secundarios, producidos por las plantas del género Digitalis, que se utilizan ampliamente en el tratamiento de la insuficiencia cardíaca.
Taninos	El tanino se encuentra principalmente en las raíces, la corteza, y de vez en cuando en las hojas de la planta. Estos compuestos tienen propiedades antibacterianas, astringentes y antisépticas.
Azúcares reductores	Existen en las plantas otros principios activos relevantes denominados nutrientes esenciales.
Fenoles	Sus acciones farmacológicas y aplicaciones son diversas, como antioxidantes, analgésicos, coleréticos etc.

2.2.2. Características de los *Staphylococcus*

El nombre deriva del vocablo griego *Staphule* que significa uva, con lo cual hace referencia al agrupamiento en racimos que caracteriza a estas bacterias. Se trata de cocos Gram positivos, aerobios facultativos, fermentadores de glucosa y catalasa positivos. Sin embargo, *S. aureus*, *sub esp. Anaerobius* y *S. Saccharolyticus* son catalasa negativos.

Las colonias de *Staphylococcus* miden varios milímetros de diámetro, son redondas, de borde liso, convexas y con superficie brillante, *S. aureus* es beta hemolítico; por lo tanto, en una placa de agar sangre aparece un halo claro de hemólisis alrededor de la colonia. Algunas especies pueden tener pigmentos que le confieren un color característico a las colonias, por ejemplo, las de *S. aureus* son amarillentas, por lo que algunos lo refieren como el “estafilococo dorado”, de donde deriva el nombre de la especie; mientras que las de *S. epidermidis* son blancas.

Las especies *S. aureus* y *S. epidermidis* suelen encontrarse como parte de la flora normal en piel y mucosas; sin embargo, son las de mayor importancia médica. Pueden diferenciarse, entre otras pruebas, mediante la prueba de coagulasa; la primera es positiva y la segunda negativa. Por mucho tiempo se consideró que solo *S. aureus* era patógeno; actualmente se ha demostrado que muchas otras especies, de las treinta y dos que incluye el género, pueden causar enfermedades, por lo cual, es importante su identificación.

2.2.2.1. *Staphylococcus epidermidis*

Se caracteriza por ser coagulasa negativo fue considerado por mucho tiempo como un germen contaminante de cultivos.

Las infecciones causadas por *S. epidermidis* se relacionan con la colonización de cuerpos extraños, especialmente en el paciente hospitalizado. ⁽¹⁷⁾

2.2.3 Actividad antimicrobiana

2.2.3.1 Concepto

De acuerdo con Villar ⁽¹⁷⁾, la actividad antibacteriana es un agente antimicrobiano que elimina o detiene el crecimiento de microorganismos. Se le llama antibiótico si es producido por otro microorganismo, esta característica se manifiesta en las sulfonamidas y quinolonas.

Mientras que, los antisépticos son aquellos compuestos inorgánicos que elimina casi la totalidad de microorganismos, a excepción de las esporas. Asimismo, los antisépticos también se utilizaron en la piel. De otro lado, los desinfectantes están compuestos por antimicrobianos fuertes, es decir, no son aptos para el uso en tejidos vivos, sino que son utilizados en implementos de cirugías.

En conclusión:

- Antimicrobiano = Elimina o detiene el crecimiento de bacterias.
- Antibiótico = Es originado por microorganismos para la eliminación o detención de las bacterias.
- Antiséptico = Antimicrobiano inorgánico que se puede emplear en la piel.
- Desinfectante = Antimicrobiano para la utilización en objetos inanimados ⁽¹⁸⁾.

2.2.3.2 Principios de la terapia antimicrobiana

- Conservar concentraciones plasmáticas superiores a la CMI durante varios días, luego de la remisión de síntomas. Situación adversa, la probabilidad de la presencia de resistencia aumenta. Por ello, la terapia

deberá ser cambiada si no hay una mejora en el lapso de 72 horas.

- La limpieza de abscesos o heridas es fundamental para la acción de los antimicrobianos
- Uso de agentes bactericidas, si existe presencia de neutropenia.
- En caso no haya el antibiograma, se deberá utilizar el antimicrobiano, según la clase de bacteria que afecta al tejido u órgano y especie animal sí se han de combinar antimicrobianos, que actúen por distintos mecanismos y tengan sinergia, ya que su acción puede ser ⁽¹⁹⁾ :
 - **Bacteriostático:** Es considerado como el fungistático que “contiene” la proliferación, sin embargo, no son desechadas. Además, evitan la propagación de infección, de igual forma, el sistema inmunológico tiene la función de inmovilizar y eliminar el patógeno ⁽¹⁸⁾.
 - **Bactericida:** Fungicida que se encarga de eliminar los microorganismos, no obstante, solo funciona en los microorganismos que se multiplican (β -lactámicos) ⁽¹⁸⁾.

2.2.3.3 Concentraciones mínimas inhibitorias (CMI)

La potencia está determinada por la concentración mínima inhibitoria o la concentración mínima bactericida.

i. Concentración mínima inhibitoria (CMI):

Es la concentración más baja de antibiótico con la capacidad de evitar el desarrollo de 10^5 bacterias en 1 mL de medio de cultivo, luego de 18-24 horas de incubación.

ii. Concentración mínima bactericida (CMB):

Es la menor concentración con la capacidad de desechar o eliminar 10^5 bacterias en 1 ml de medio de cultivo, después de 18- 24 horas de incubación ⁽²⁰⁾.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis General:

El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (Mastuerzo) presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis*.

2.3.2. Hipótesis Específicas

- El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) presenta metabolitos secundarios.
- El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (Mastuerzo) a las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presentan actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis*.

2.4. Variables

2.4.1 Tabla de Operacionalización de variables

Tabla N° 03: Operacionalización de variables

VARIABLES	DIMENSIÓN	INDICADORES
V1: INDEPENDIENTE Extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (mastuerzo)	Metabolitos presentes	Concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100% del extracto etanólico
V2: DEPENDIENTE Actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Tropaeolum majus</i> L. (mastuerzo) sobre <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	Evaluación Microbiológica de cepas <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Diámetro del halo de inhibición Concentración Mínima Inhibitoria (Número de colonias de <i>Staphylococcus epidermidis</i>)

2.5. Marco conceptual

- a) **Actividad Antibacteriana:** Es la capacidad de matar, inhibir y/o inactivar microorganismos, impedir su proliferación y/o impedir su acción patógena.
- b) **Antibiograma:** Está referido a los informes de la prueba de susceptibilidad de los agentes antimicrobianos⁽²¹⁾.
- c) **Antimicrobiano:** Es una molécula natural, originada por microorganismos, hongos. Esta puede llegar a producir la muerte o evitar el desarrollo de los virus, bacterias y otros ⁽²²⁾.
- d) **Cepas ATCC:** Es un material biológico legitimado por American Type Culture Collection. Rockville, EU. ⁽²³⁾.
- e) **Cultivo microbiológico:** Se encarga de brindar las propiedades químicas, nutritivas y físicas óptimas para aumentar de manera vigiladas, los microorganismos ⁽²⁴⁾.
- f) **Droga vegetal:** Son los productos con fines terapéuticos. Además, estos no tienen ningún tipo de procesamiento industrial. Puede ser parte o el total de una planta.
- g) **Extracto vegetal:** Es una mezcla conformada por compuestos químicos, producto de procesos químicos, físicos y microbiológicos, en función a la fuente natural. Asimismo, puede ser usado en todo campo tecnológico. De una sola planta se puede adquirir varios tipos de extractos con principios activos.
- h) **Extracto Etanólico:** Posee un aroma particular, originado por la materia prima desecada. Esta pasa el proceso de maceración con etanol, el cual es desechado después de un proceso físico. Estos procedimientos están sujetos a operaciones específicas para la eliminación de sus componentes y optimizar la calidad del producto ⁽²⁶⁾.
- i) **Flora bacteriana:** Grupos de microorganismos que se relacionan con el exterior ⁽²⁷⁾.
- j) **Halo de inhibición:** Área que rodea el disco que posee el extracto o antibiótico situado en un antibiograma. Aquí no hay presencia del desarrollo antibacteriano.

- k) *In vitro*:** Es una técnica que se basa en el experimento que se realiza en un ambiente vigilado o en tubos de ensayo.
- l) Mueller Hinton Agar:** No posee inhibidores, ni sustancias gelatinosas, los cuales son usados para el desarrollo de numerosos microorganismos (Gram positivos, Gram negativos y hongos).
- m) Medios de cultivo:** Son nutrientes que agregan propiedades químicas y energía para síntesis de sus componentes celulares ⁽²⁴⁾.
- n) Multiplicación patógena:** Capacidad de un microorganismo específico para aumentar la cantidad de sus colonias. ⁽²⁵⁾.
- o) Planta medicinal:** Según la Organización Mundial de la Salud, se le considera como el vegetal que posee 1 o más componentes curativos. Asimismo, la planta medicinal es un precedente de los fármacos. ⁽¹⁵⁾
- p) Principios activos:** Son las sustancias responsables de la acción farmacológica.
- q) *Staphylococcus aureus*:** Es un agente etiológico de diversas patologías incluyendo infecciones de piel y tejido blando ⁽²⁸⁾.
- r) Macerar:** Es la manera de obtener los principios activos de un vegetal, para ello se utilizan solventes, como: éter, alcohol, agua y otros. Luego se debe tener reposo por el periodo determinado.
- s) Anova:** Se le denomina de esta manera a la técnica de Análisis de Varianza. Esta es una de las más frecuentes para analizar los datos obtenidos de investigaciones experimentales. Se aplica cuando se requiere la contrastación más de 2 medias, es decir, puede ser considerada como amplificación del examen para la diferenciación de 2 medias. Asimismo, el Anova facilita la construcción de técnicas estadísticas. El Anova facilita la división de la varianza de la variable dependiente en 2 o más elementos. ⁽²⁹⁾
- t) Screening Fitoquímico:** También es conocido como tamizaje fitoquímico. Ese proceso forma parte de las primeras fases de una investigación, ya que se encarga de conocer los grupos químicos que pertenecen a la planta. Asimismo, forma parte de las reacciones de coloración. ⁽³¹⁾
- u) Solvente Orgánico:** Son considerados como elementos orgánicos momentáneos, constituidos por el Carbono. Son usados, de manera

individual o en conjuntos, con otros componentes de disolución usados para productos de limpieza, cambiar la viscosidad. Además, sirve como un conservante y cargador de sustancias que luego evaporarán el disolvente. ⁽³²⁾

v) Método Kirby-Bauer: Es de tipo cualitativo, el cual si distingue por ser veloz y práctico. Este está destinado a microorganismos no exigentes de crecimiento rápido. El antibiograma está constituido por disco difusión, de acuerdo con el estudio de Bauer, Kirby y colaboradores. Es uno de los métodos, de sensibilidad bacteriana hacia los antibióticos, recomendados por el NCCLS (National committee for clinical laboratory standards).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo de estudio

La investigación desarrollada responde al tipo experimental, debido a que en su procedimiento se analiza la muestra del extracto etanólico de las flores del *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) para evidenciar la presencia de metabolitos secundarios y el efecto antibacteriano, de este modo se practica la manipulación en forma deliberada de la variable dependiente para verificar si realmente tiene actividad antimicrobiana la *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo).

3.2. Diseño a utilizar

En su diseño el estudio tiene el carácter básico y su proceso comprende la utilización de un grupo de control y uno experimental.

3.2.1. Material biológico

Flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) obtenidas, en el distrito de ventanilla, Provincia del Callao, Lima.

3.2.2. Materiales e instrumentos de laboratorio

- Vernier digital Caliper, modelo DC-515
- Placas Petri de vidrio 90mm de diámetro x 15 mm de altura
- Asa de Drigalsky de vidrio
- Tubos 150 mm con tapa rosca
- Viales de vidrio de 5 mL de capacidad
- Puntas para micropipeta de 20-200 μ L
- Puntas para micropipeta de 0.5-5 mL
- Micropipeta calibrada de 20-200 μ L
- Micropipeta calibrada de 0.5-5 mL
- Frascos de vidrio de 500 mL de capacidad con tapa rosca

- Frascos de vidrio de 200 mL de capacidad con tapa rosca
- Viales de vidrio de 10 mL de capacidad.
- Gradilla
- Espátulas
- Sacabocado con diámetro interno de 6mm
- Papel kraft
- Asa bacteriológica
- Escala de Mac Farland
- Baguetas de vidrio
- Indicador multiparámetro de esterilización.
- Filtro Hydrophilic PVDF 0.45 um Millipore Miller-HV.
- Jeringa de 5mL.

3.2.3 Insumos

a) Medios de cultivo

- Caldo Trypticase Soya (TSB) Marca Oxoid
- Agar Trypticase Soya (TSA) Marca Oxoid
- Agar Mueller Hinton Marca Merck

b) Inóculo

- *Staphylococcus epidermidis* cepa ATCC 12228

c) Reactivos

- Agua destilada
- Cloruro de sodio grado bacteriológico marca Oxoid
- Alcohol 96°

3.2.4 Equipos

- Incubadora 35°C EQ-CCA-026 Labor LP-11 S: 69-6315/4
- Autoclave Vertical Digital EQ-CCA-054 Reles AL/D 50L S: 476-15
- Potenciómetro EQ-CCA-005 Inolab 730 S: 10380849

- Baño María EQ-CCA-009 Marca Memmert WNE-10 S: L307.0363
- Balanza analítica EQ-CCA-037 AND HR 250 AZ S: GA7702480
- Estufa EQ-CCA-001 Marca Memmert UN55 S: B215-2490
- Mechero Bunsen

3.2.5. Estudio fitoquímico

Para efectuar el estudio fitoquímico se siguió el método propuesto por Olga Lock de Ugaz.

3.2.6. Estudio macroscópico

El estudio macroscópico consta de varios pasos a seguir para la preparación de medios de cultivo elaborados con productos naturales los mismos que han sido formulados teniendo en cuenta estudios previos.

3.3 Población

Constituida por flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo), ubicados en el área de la cooperativa de vivienda constitución, perteneciente al distrito de Ventanilla, provincia constitucional del Callao, departamento de Lima.

3.4 Muestra

Muestra vegetal: 1 Kg. de flores frescas de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) para la preparación del extracto etanólico.

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.5.1. Técnica de recolección de datos

La técnica empleada en la presente investigación fue la de observación de tipo estructurada, ya que el estudio es de investigación concluyente de precisión y objetividad, no participante, colectivo llevado a cabo en el laboratorio.

3.5.2. Instrumentos de recolección de datos

Ficha de observación AD-HOC de screening fitoquímico de efecto antibacteriano del extracto etanólico de las flores del mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) en cultivos de “*Staphylococcus epidermidis*”.

Ficha de observación AD-HOC de prueba de solubilidad efecto antibacteriano del extracto etanólico de las flores del mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) en cultivos de “*Staphylococcus epidermidis*”.

3.6. Procesamiento de datos

3.6.1. Identificación de las muestras en estudio

La identificación taxonómica de las flores de *Tropaeolum majus* L. (*Mastuerzo*), fue realizada por el Biólogo Botánico José Campos de la Cruz, como consta en el Certificado taxonómico correspondiente (ver anexo 03).

3.6.2 Recolección de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo)

Se recolectó 1 kg. de flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo).

La muestra, se envolvió en papel kraft y se le colocó rótulo. Las muestras se llevaron al laboratorio de especialidad de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde se eliminaron las sustancias extrañas presentes en ambas muestras.

Se utilizaron 100 gramos de flores secas, se agregó 800mL de etanol a un frasco color ámbar y se maceró por 5 días. Se procedió a filtrar el extracto por bomba al vacío. El filtrado se vierte en una placa petri y se lleva a estufa a 40° para el concentrado (por 4 días) pasado esto se realizó la marcha fitoquímica. (Ver anexo N° 02)

Las muestras se sometieron a pruebas de solubilidad en solventes de diferentes polaridades, con el fin de determinar el solvente más adecuado para la evaluación de los medios de cultivo. (Ver anexo N° 02). Posteriormente, la muestra se sometió a diversos reactivos, coloraciones y precipitaciones para lo cual agregamos a cada tubo de 3 - 4 gotas del extracto etanoólico de *Tropaeolum Majus* L. (Ver anexo N° 02).

3.6.3. Solubilidad y análisis de compuestos químicos (metabolitos)

TABLA N° 04: Determinación de metabolitos.

N°	METABOLITOS	ENSAYO	REACCION POSITIVO	PROCEDIMIENTO
1	Flavonoides	Ensayo de Shinoda	Naranja Rojo	1mL de extracto + varias limaduras de Mg + 1mL HCL cc (37%)
2	Antocianina	Prueba cualitativa H ₂ SO ₄	Azul Rojo a anaranjado	2 mL de extracto +1ml NaoH diluido 2 mL del filtrado + 6 gotas de H ₂ SO ₄ al 10%
3	Lactonas	Ensayo de Baljet	Anaranjado a rojo oscuro	2mL de extracto +3-4 gotas de reactivo Baljet (ácido pierico e hidróxido de sodio)
4	Cardenólicos	Prueba kedde	Azul - violeta	Sol A: 3,5 dinitrobenzoico 2% en metanol Sol B: KOH 2.7% en agua Mezclar sol A + Sol B (1:1) + 1mL del reactivo KEDDE
5	Esteroides	Prueba de Lieberman Burchard	Rojo - anaranjado	1mL anhídrido acético + 1mL cloroformo y enfriar a 0°+ 1gota de H ₂ SO ₄ 1mL del extracto + el reactivo Liebermann.
6	Taninos	Cloruro férrico	Azul oscuro a Verde oscuro	1 mL de extracto + 3-4 gotas de cloruro férrico.
7	Fenoles	Cloruro férrico	Azul oscuro Verde oscuro	1mL de extracto + 3-4 gotas de cloruro férrico.
8	Aminoácidos	Ensayo Ninhidrina	Violeta o Azul violeta	1mL de extracto + 1mL Ninhidrina calentar x 1 min dejar enfriar y observar.
9	Triterpenos	Prueba de Lieberman Burchard	Rojo – rosa	2mL de extracto + 1mL cloroformo por las paredes + 1mL de anhídrido acético.
10	Azúcares reductores	Prueba de Fehling	Rojo ladrillo	1mL de extracto + 1mL Fehling A + Fehling B
11	Alcaloides	Ensayo de Dragendorff	Anaranjado Marrón	1mL HCL 10%+ 1mL de extracto calentar a 60°c x 10 min y se agrega la solución de reactivo de Dragendorff

3.6.4. Reactivación de las bacterias

3.6.4.1 Fase Pre analítica

3.6.4.1.1 Preparación de Materiales

- Las placas Petri se envolvieron en papel kraft y se esterilizaron por calor seco en una estufa a 180°C por 2 horas.
- Las puntas para las micropipetas, los viales de vidrio y los tubos con tapa rosca se esterilizaron con calor húmedo en autoclave a 121°C y 15 lb/pg² durante 15 minutos.

3.6.4.1.2 Preparación de los Medios de Cultivo

- Se preparó 20mL de caldo TSB según las instrucciones del fabricante (30 gramos para 1 litro de agua destilada) en dos tubos de ensayo y se esterilizó en autoclave.
- Se preparó 100mL de agar TSA según las instrucciones del fabricante (40 gramos para 1 litro de agua destilada) en un frasco de vidrio y se esterilizó en autoclave. El agar ya esterilizado se enfrió en baño María a 45-50°C y se vertió en placas Petri estériles.
- Se preparó 200mL de agar Mueller Hinton en un frasco de vidrio de acuerdo a las instrucciones del fabricante (34 gramos para 1 litro de agua destilada). Se autoclavó el agar a 121°C y 15 lb/pg² durante 15 minutos. Inmediatamente después de autoclavar se llevó a Baño María a 45 - 50°C. Una vez temperado se vertió el preparado fresco y tibio a placas Petri de vidrio estériles, para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm, esto corresponde a 25- 30 ml para placas de 90 mm de diámetro. El agar ya plaqueado se dejó solidificar a temperatura ambiente.

El pH de cada lote de agar Mueller Hinton debe tener un pH entre 7,0-7,6. Esta medición puede realizarse sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de autoclavar.

- Se preparó 100mL de suero fisiológico estéril, para ello se pesó 900mg de cloruro de sodio grado bacteriológico y se completó con agua destilada hasta un volumen de 10mL, se esterilizó en autoclave. Luego se añadió volúmenes de 10mL a 4 tubos estériles.

3.6.4.1.3 Activación de la Cepa

- Las cepas se encontraban refrigeradas entre 4-8°C en placas con agar TSA.
- Para cada cepa se tomó una colonia con el asa bacteriológica y se sembró en tubos con caldo TSB estéril y se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas.
- La turbidez demostró el crecimiento de las cepas. Se sembró del caldo TSB a placas con agar TSA. Se llevó a la incubadora a 37°C por 24 horas.

3.6.4.1.4 Preparación de la Muestra

- La muestra se reconstituyó con agua destilada estéril, se pesó 5 gramos en un vial de vidrio y se completó hasta un volumen de 10mL con agua destilada. Esta es la solución madre 500mg/mL, es la máxima concentración del extracto que permite tenerlo en forma líquida.
- Con ayuda de la jeringa se tomó un volumen del extracto reconstituido y se hizo pasar por el filtro para retener las bacterias contaminantes hasta obtener un volumen filtrado suficiente para hacer las diluciones.
- El extracto ya reconstituido y filtrado se trabajó a 4 concentraciones: 100%, 75%, 50% y 25%.

- Para realizar las diluciones a partir del extracto se usó agua destilada y dichas diluciones se realizaron de la siguiente forma:
 - 100%: se colocó 4mL del extracto en un vial de vidrio.
 - 75%: se colocó 3mL del extracto en un vial de vidrio y se añadió 1mL de agua destilada.
 - 50%: se colocó 2mL del extracto en un vial de vidrio y se añadió 2mL de agua destilada.
 - 25%: se colocó 1mL del extracto en un vial de vidrio y se añadió 3mL de agua destilada

3.6.4.2 Fase Analítica

3.6.4.2.1 Preparación del Inóculo

- A partir de colonias puras de los microorganismo *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, se tomó una cierta cantidad de colonias y se diluyó en tubos de ensayo conteniendo 10 mL de suero fisiológico estéril (cloruro de sodio 0.9%) de tal manera que la soluciones resultantes tuvieron una turbidez correspondiente al tubo N°1 de la escala de MacFarland (escala turbidimétrica que consiste en una serie de tubos con turbidez creciente que permite hallar la concentración aproximada de una solución bacteriana) el cual corresponde a una concentración de 3×10^8 ufc/mL.
- A partir de estas últimas soluciones se realizó diluciones de 1 en 3, para ello de estas soluciones preparadas se tomó 3 mL y se diluyeron a un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en tubos con tapa rosca, todos los materiales usados deben ser estériles y también el área de trabajo. Las soluciones resultantes tuvieron una concentración de 1×10^8 ufc/mL.

3.6.4.2.2 Inoculación de las Placas

- Se agregó 100 uL de cada inóculo bacteriano preparado (1×10^8 ufc/mL) a 6 placas con agar Mueller Hinton (6 placas para cada microorganismo) y con la ayuda de una espátula de Drigalsky se esparcieron los inóculos por todas las placas de tal manera que se obtenga un crecimiento homogéneo, para lo cual se deslizó el asa en la placa en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la misma. Luego se repitió el procedimiento rotando la placa 60° en dos oportunidades más.
- Deben extremarse los cuidados en sembrar las placas de borde a borde, porque de lo contrario puede haber problemas en la realización de las lecturas. Se dejó secar 3 a 5 minutos antes de hacer los pocillos.

3.6.4.2.3 Formación de los pocillos

- Se esterilizó el sacabocados con alcohol y se flameó en el mechero, luego con mucho cuidado se hizo los pocillos, se hizo tres por cada placa.
- Los pocillos deben estar a más de 15 mm del borde de la placa y deben distribuirse de tal manera que no haya superposición de los halos de inhibición.

3.6.4.2.4 Sembrado de las muestras y controles

- Se usó 4 placas para las diluciones del extracto, 2 placas por cada dilución (para *S. epidermidis*)
- Cada dilución se sembró por triplicado añadiendo 80uL en cada pocillo.
- Como control negativo o muestra blanco se usó agua destilada estéril. En 2 placas se sembró 80uL por triplicado.

- Como control positivo se usó una solución de Ciprofloxacino equivalente a 0.125mg/mL. En 2 placas se sembró 80uL por triplicado.

3.6.4.2.5 Incubación

- Las 08 placas de las diluciones de la muestra y los controles se llevaron a una incubadora a 37°C durante 24 horas.

3.6.4.3 Fase Post analítica

Después de 18 a 24 horas de incubación, cada placa fue examinada. Las zonas de inhibición resultantes deben ser uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento bacteriano. Los diámetros de la zona de inhibición completa se midieron en milímetros pasando por el centro de cada pocillo. La medición se realizó por triplicado para cada pocillo con un vernier digital que mide hasta centésima de milímetro. Los valores de las mediciones por triplicado se promediaron y se redondearon para reportarlo como un número natural.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

Tabla 5. Presentación de resultados - Marcha Fitoquímica.

N°	METABOLITOS	ENSAYO	REACCION POSITIVA	RESULTADOS
1	Flavonoides	Ensayo de Shinoda	Naranja Rojo	++
2	Antocianina	Prueba cualitativa H ₂ SO ₄	Azul Rojo a anaranjado	++
3	Lactonas	Ensayo de Baljet	Anaranjado a rojo oscuro	++
4	Cardenólicos	Prueba kedde	Azul - violeta	++
5	Esteroides	Prueba de Lieberman Burchard	Rojo - anaranjado	++
6	Taninos	Cloruro férrico	Azul oscuro a Verde oscuro	++
7	Fenoles	Cloruro férrico	Azul oscuro Verde oscuro	++
8	Aminoácidos	Ensayo Ninhidrina	Violeta o Azul violeta	++
9	Triterpenos	Prueba de Lieberman Burchard	Rojo – rosa	++
10	Azúcares reductores	Prueba de Fehling	Rojo ladrillo	++
11	Alcaloides	Ensayo de Dragendorff	Anaranjado Marrón	+

Tabla 6. Actividad antibacteriana de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228.

Microorganismo	Controles			Muestra		
	Halos de Inhibición (mm)			Extracto		
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Ciprofloxacino 0.125mg/mL			100%		
	40	40	39	16	17	16
				75%		
				15	15	14
				50%		
	14	13	14			
	Agua destilada estéril			25%		
	6	6	6	13	12	12

- El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halos de inhibición.
- El tamaño de los diámetros de inhibición contienen el tamaño de los pocillos.

Tabla 7. Estadística inferencial de los datos de cada extracto.

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1,00	3	39,6667	,57735	,33333	38,2324	41,1009	39,00	40,00
2,00	3	16,3333	,57735	,33333	14,8991	17,7676	16,00	17,00
3,00	3	14,6667	,57735	,33333	13,2324	16,1009	14,00	15,00
4,00	3	13,6667	,57735	,33333	12,2324	15,1009	13,00	14,00
5,00	3	12,3333	,57735	,33333	10,8991	13,7676	12,00	13,00
6,00	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
Total	18	17,1111	10,91081	2,57170	11,6853	22,5369	6,00	40,00

LEYENDA:

- 1 = Control positivo (Ciprofloxacino 0,125mg/ml)
- 2 = Extracto de mastuerzo al 100%
- 3 = Extracto de mastuerzo al 75%
- 4 = Extracto de mastuerzo al 50%
- 5 = Extracto de mastuerzo al 25%
- 6 = Control negativo (agua destilada)

Se puede observar en el cuadro propuesto el tratamiento estadístico descriptivo de los datos encontrados. El conjunto de medias obtenidas se ubican dentro de los límites establecidos a un intervalo de confianza del 95% y un error relativo del 5%, de este modo ningún dato se excluye, por lo que se utilizó estadística inferencial para determinar si entre las medias de cada extracto estudiado existen diferencias significativas.

Tabla 8. Prueba de homogeneidad de varianza de la eficacia antibacteriana de extracto de mastuerzo, *in vitro*.

Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
3,200	5	12	,046

DONDE:

H_0 = Las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneos ($P < 0.05$)

H_1 = Las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneos ($P > 0.05$)

La prueba de homogeneidad de varianzas nos permite determinar si las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente, depende de ello para determinar el tipo de prueba estadística inferencial a ser aplicado. Observamos que $P < 0.05$, por lo tanto, se concluye que las varianzas de los tratamientos aplicados no son homogéneas, rechazando la hipótesis alternativa. Estos resultados son de importancia debido a que permite elegir la prueba estadística inferencial correspondiente que para este caso es la prueba ANNOVA ONE WAY o de un factor.

Tabla 9. Prueba de Anova de un factor de la eficacia antibacteriana de extracto de mastuerzo, *in vitro*.

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2020,444	5	404,089	1454,720	,000
Dentro de grupos	3,333	12	,278		
Total	2023,778	17			

DONDE:

H_0 = No existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P > 0.05$)

H_1 = Existe diferencias significativas entre los tratamientos aplicados ($P < 0.05$)

La prueba Anova One Way o también conocida como de un factor permite observar si la comparación entre los tratamientos aplicados y la media de cada uno de ellos presentan diferencias significativas. La observación del resultado ($P < 0.05$) confirma la hipótesis alternativa, es decir, existen diferencias significativas, por lo que se requiere de pruebas post hoc.

Tabla 10. Prueba de Tukey de comparaciones múltiples de la eficacia antibacteriana de extracto de mastuerzo, *in vitro*.

(I) Concentración	(J) Concentración	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
1,00	2,00	23,33333*	,43033	,000	21,8879	24,7788
	3,00	25,00000*	,43033	,000	23,5546	26,4454
	4,00	26,00000*	,43033	,000	24,5546	27,4454
	5,00	27,33333*	,43033	,000	25,8879	28,7788
	6,00	33,66667*	,43033	,000	32,2212	35,1121
2,00	1,00	-23,33333*	,43033	,000	-24,7788	-21,8879
	3,00	1,66667*	,43033	,021	,2212	3,1121
	4,00	2,66667*	,43033	,001	1,2212	4,1121
	5,00	4,00000*	,43033	,000	2,5546	5,4454
	6,00	10,33333*	,43033	,000	8,8879	11,7788
3,00	1,00	-25,00000*	,43033	,000	-26,4454	-23,5546
	2,00	-1,66667*	,43033	,021	-3,1121	-,2212
	4,00	1,00000	,43033	,257	-,4454	2,4454
	5,00	2,33333*	,43033	,002	,8879	3,7788
	6,00	8,66667*	,43033	,000	7,2212	10,1121
4,00	1,00	-26,00000*	,43033	,000	-27,4454	-24,5546
	2,00	-2,66667*	,43033	,001	-4,1121	-1,2212
	3,00	-1,00000	,43033	,257	-2,4454	,4454
	5,00	1,33333	,43033	,077	-,1121	2,7788
	6,00	7,66667*	,43033	,000	6,2212	9,1121
5,00	1,00	-27,33333*	,43033	,000	-28,7788	-25,8879
	2,00	-4,00000*	,43033	,000	-5,4454	-2,5546
	3,00	-2,33333*	,43033	,002	-3,7788	-,8879
	4,00	-1,33333	,43033	,077	-2,7788	,1121
	6,00	6,33333*	,43033	,000	4,8879	7,7788
6,00	1,00	-33,66667*	,43033	,000	-35,1121	-32,2212
	2,00	-10,33333*	,43033	,000	-11,7788	-8,8879
	3,00	-8,66667*	,43033	,000	-10,1121	-7,2212
	4,00	-7,66667*	,43033	,000	-9,1121	-6,2212
	5,00	-6,33333*	,43033	,000	-7,7788	-4,8879

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

La prueba estadística de Tukey permite realizar comparaciones múltiples, así como determinar estadísticamente que medias son heterogéneas. En la tabla adjunta se muestra que existen diferencias significativas entre 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 2-3, 2-4, 2-5, 2-6, 3-5, 3-6, 4-6, 5-6; de este modo en el cuadro de subconjuntos de datos se expondrá el resumen de la prueba de Tukey.

Tabla 11. Prueba de Tukey de subconjunto de datos de la eficacia Antibacteriana de extracto de mastuerzo, *in vitro*.

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
6,00	3	6,0000				
5,00	3		12,3333			
4,00	3		13,6667	13,6667		
3,00	3			14,6667		
2,00	3				16,3333	
1,00	3					39,666
Sig.		1,000	,077	,257	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.

De acuerdo con el cuadro expuesto se puede concluir:

- a)** El control positivo presenta el mejor efecto antibacteriano frente al extracto de mastuerzo
- b)** El extracto de mastuerzo al 100% presenta el mejor efecto antibacteriano con respecto a los otros porcentajes.
- c)** Los extractos de mastuerzo al 75%, 50% y 25% presentan igual efecto antibacteriano pero menor con respecto al 100%.

4.2. Contrastación de hipótesis

4.2.1. Hipótesis general:

- **H_{G1}**: El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (Mastuerzo) presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis*.
- **H_{G0}**: El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (Mastuerzo) no presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis*.

- **Resultado**: Teniendo en cuenta los resultados obtenidos y habiéndose aceptado las hipótesis **H_{G1}** y **H_{G0}**, se acepta la hipótesis alterna **H_{G1}**.

4.2.2. Hipótesis específicas:

Hipótesis específica 1:

- **H₁**: El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) presenta metabolitos secundarios.
- **H₀**: El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) no presenta metabolitos secundarios.

- Mediante la preparación del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (Mastuerzo), se obtuvieron metabolitos secundarios como: Flavonoides, antocianinas, lactonas, esteroides, cardenólidos, taninos, fenoles, aminoácidos, triterpenos presentando cada uno de ellos ++ a excepción de los alcaloides que se encontraron en menor cantidad presentando solo +

- **Resultado**: Con los resultados obtenidos, se acepta la hipótesis alterna **H₁**.

Hipótesis específica 2:

- **H₁**: El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (Mastuerzo) a las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis*.
- **H₀**: El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (Mastuerzo) a las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% no presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis*.
- Mediante el uso del Agar Mueller Hinton el extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (Mastuerzo), frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* en concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100% presentaron actividad antibacteriana.
- **Resultado**: Por lo tanto, se acepta la hipótesis H₁.

4.3. Discusión de resultados

El estudio cuyo objetivo fue determinar el efecto inhibitorio *in vitro* del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” a concentraciones de 30%, 40% y 50% sobre *Escherichia coli*, de **Tenorio A. y Estrada J. (2016)**, mediante el método modificado de difusión de Kirby Bauer para la determinación del efecto inhibitorio, encontró los halos de inhibición promedios de 20.11, 23.57 y 26.55 mm en las cepas de *Escherichia coli*. Concluyendo que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” tiene efecto inhibitorio *in vitro* sobre *Escherichia coli* ⁽³⁾. Resultados que estarían corroborando los datos obtenidos en esta investigación donde se encontró que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo”, en concentraciones de 75% y 100% presentaron actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis*.

Asimismo, **Bastidas Y., Llacua (2018)**, estudió la cantidad de fenoles totales presentes en los extractos metanólicos de las flores de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) a través de la prueba de Folin ciocalteau, Encontrando que las flores de mastuerzo tienen cantidades significativas de fenoles. Se realizaron extracciones de metabolitos secundarios de flores de *Tropaeolum majus* L., usando como solvente etanol y se identificó la presencia de quinonas, taninos, como principales constituyentes. Se estudió la actividad antimicrobiana con el método de Kirby Bauer o disco difusión. La cepa utilizada fue *Penicillium* sp., lo cual mostró actividad antimicrobiana del extracto metanólico de flores frente a *Penicillium* sp (8 a 15mm). Mostrando un mayor diámetro de inhibición a una concentración del 100 % ⁽⁴⁾ . Estos resultados se alinean con los obtenidos en la presente investigación en el sentido de que el extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (Mastuerzo), presenta metabolitos secundarios como: Flavonoides, antocianina, lactonas, esteroides, cardenólidos, taninos, fenoles, aminoácidos y triterpenos. Datos que están corroborando lo obtenido en el estudio presente.

De otro lado la investigaciones de **Naranjo M, et al. (2017)**, con el objetivo de evaluar *in vitro* la eficacia antimicrobiana del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre *Staphylococcus aureus*, con el empleo del método de difusión en disco (Kirby-Bauer), se evaluaron concentraciones al 50%, 75% y 100% en dilución en etanol al 96,8%, los resultados indican que el extracto de tomillo fue altamente eficaz inhibiendo el crecimiento bacteriano, mientras que el mastuerzo no dio ningún resultado favorable. Concluyeron que el extracto de mastuerzo no presenta actividad antimicrobiana. ⁽²⁾. Así también el trabajo de **Mira J. (2017)**, de objetivo evaluar *in vitro* la eficacia antimicrobiana del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre *Staphylococcus aureus*. Se evaluaron concentraciones al 1%, 5%, 10%, 30%, 50%, 70% y 90% en dilución en etanol al 96,8%. Se determinó la concentración Mínima Inhibitoria mediante el método de microdilución en caldo, encontrando que el extracto de mastuerzo evidenció turbidez en todas

sus diluciones por lo que no cuenta con actividad antimicrobiana. ⁽⁷⁾
Resultados de ambos trabajos que no concuerdan con los obtenidos por la investigación propuesta, lo cual está indicando la necesidad de que deben realizarse otras investigaciones, respecto del mastuerzo a fin de que se pueda dilucidar esta controversia.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

1. El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus epidermidis*.
2. El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) posee metabolitos secundarios; Flavonoides, antocianina, lactonas, esteroides, cardenólicos, taninos, fenoles, aminoácidos, triterpenos.
3. El extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. presenta actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus epidermidis* en concentraciones de 75% y 100%, a comparación de las concentraciones de 25% y 50%.

Sin embargo, la actividad de las concentraciones antes mencionadas; fue menor frente al control positivo (ciprofloxacino 0.125mg/mL).

5.2. RECOMENDACIONES

1. Se desarrollen más estudios con otros tipos de extractos de la planta *Tropaeolum majus* L. donde consecuentemente se realicen investigaciones adicionales a fin de identificar y aislar los metabolitos secundarios que son responsables de diversas propiedades terapéuticas.
2. Debido a los resultados obtenidos los cuales son favorables para la inhibición de *Staphylococcus epidermidis*, se recomienda la elaboración de una forma farmacéutica vía tópica; para el tratamiento de afecciones dermatológicas ocasionadas por dicha cepa bacteriana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Cetrángolo, O., Bertranou F., Casanova L., Casalí P., Artículo “El sistema de Salud del Perú” Primera edición, Recuperada de: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/2401.pdf>, 2013.
2. Naranjo M, Montero M. Eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*tropaeolum majus*) y tomillo (*thymus vulgaris*) sobre cepa certificada de *staphylococcus aureus* (Documento Final del Proyecto de Investigación como requisito para obtener el grado de Médico Veterinario Zootecnista). Ecuador: Universidad Técnica de Ambato; 2017.
3. Tenorio A. y Estrada J. Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* “mastuerzo” sobre *Escherichia coli* aislada de pacientes con Infecciones del Tracto Urinario (Tesis para optar el título de licenciado de Biología y microbiología). Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo; 2016.
4. Bastidas Y., Llacua L. Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto metanólico de las flores de la especie vegetal mastuerzo (*Impeeolum majus* L.) frente al crecimiento del microorganismo *Penicillium* sp.(Tesis para optar el título profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias). Perú: Universidad Nacional del Centro del Perú; 2018.
5. Saavedra R. Determinación de la actividad antifúngica in vitro del extracto hidroalcohólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. “mastuerzo” frente a *Sporothrix schenckii* (Tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico). Cajamarca: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2018.
6. Cabeza G. Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en ratones (*Mus musculus*) (Tesis para obtener el título de Bioquímico Farmacéutico). Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2014.
7. Mira J. Eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre cepa certificada de *Staphylococcus aureus* (Proyecto de investigación para obtener el

- grado de Médico Veterinario Zootecnista). Ecuador: Universidad Técnica de Ambato; 2017.
8. Ricardo A. Evaluación de la actividad, antioxidante y antiinflamatoria In vitro de extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Tropaeolum majus* (Tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico). Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2018.
 9. Guzmán V. Descripción del efecto del consumo de un liofilizado de capuchina, nasturtium (*Tropaeolum majus*), sobre la respuesta a la insulina y el perfil lipídico en sujetos con prediabetes: estudio piloto (Trabajo para optar el título de Nutricionista Dietista. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2018.
 10. S/A. "La naturaleza: Espuela de galán capuchina (*Tropaeolum majus*)."
vivirelanaturaleza10.blogspot.com. N.p. Web. 22 Mar. 2019.
<<http://vivirelanaturaleza10.blogspot.com/2012/10/espuela-de-galan-capuchina.html>
 11. *Tropaeolum majus*». The Plant List. Consultado el 8 de mayo de 2019.
 12. Cabezas, G. D. Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en ratones (*Mus musculus*). (Tesis pregrado). Riobamba-Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2014.
 13. Nanzi F. Monografía Capuchina (*Tropaeolum majus* L.); 1999.
Disponible en <http://www.youblisher.com/p/32615-Capuchina/>
 14. Souto R., Alves B., Da Costa C., Capuchinha (*Tropaeolum majus* L.).
Universidade Federal da Paraíba. Centro de Ciências Agrárias.
Laboratório de Química e Bioquímica. Editora Kiron. Brasília. Brasil;
2012.
 15. Loja H. Contribución al Estudio Florístico de la Provincia de Concepción - Junín: Dicotiledóneas. Universidad Mayor de San Marcos. Facultad de Ciencias Biológicas; 2002.
 16. Weinstein M, Towns ML, Quartey SM, Mirrett S, Reimer LG, Parmigiani G, Reller LB. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. Clin Infect Dis 1997; 9:582-602.

17. Villar D., Farmacología de antimicrobianos.1-4, 2010.
18. Rodenas, D y Rodríguez A. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de tallos de *Rosmarinus officinalis* L. (Romero) en cultivos de “*Staphylococcus aureis*”, estudio in vitro (Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico). Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2081.
19. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobials. 1999; M 26-A.
20. Sussmann OA, Mattos L, Restrepo A. Resistencia bacteriana. Universidad de medicina.2002.
21. Seija V, Bignoli r. Principales grupos de antibióticos. Temas de bacteriología y virología médica.2002.
22. Montoya M. Las cepas atcc. Instituto Colombiano de Medicina Tropical.2002.
23. Casado C, González G, Medina M. Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología. Laboratorio files wordpress; 2012.
24. Gonzales AA. Obtención de aceites esenciales y extractos etanólico de plantas del Amazonas. Universidad nacional de Colombia. 2004; 1-100.
25. Cisterna R. Microbiología. Hospital de Basurto; 2007.
26. Pedraza PN, Castellanos HJ. estudio comparativo de la actividad antimicrobiana de diferentes presentaciones comerciales de antibióticos de administración intravenosa a través de métodos in vitro. pontifica universidad javeina. 2009; 1-07.
27. Gil M. Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Revchilinfect. 2000; 17(2): 145-152.
28. I. Tamayo, “Análisis de varianza con spss 8.0”, disponible en: http://www.ugr.es/~imartin/TEMA5_ANOVA.pdf
29. P. Bejarano. “Ibuprofeno y Analgesia” Madrid, España, p.39. Volumen 5 Enero/Febrero 2006. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/reumatologia/propiedades_del_ibuprofen.pdf
30. M. Palacios. “Metabolitos primarios y secundarios”, Farmacognosia y

Fitoquímica Universidad Católica “Los Ángeles de Chimbote” Perú.
Disponible en: http://files.selvafarma.webnode.es/200000192-6def76ee8d/TEMA_04.pdf

31. Electrofilos.blogspot.com. (2019). Química Orgánica. [online] at: http://electrofilos.blogspot.pe/2009/04/solventesorganicos_7777.html [Acceso 29 Junio. 2019].
32. minnie.uab.es (2019). Pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos. [online] at: <http://minnie.uab.es/~veteri/21273/Practica%202.2009-10.pdf> obtenido: [Acceso 12 septiembre. 2019].

ANEXOS

ANEXO N° 01: MATRIZ DE CONSISTENCIA

“Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo), frente a *Staphylococcus epidermidis*, por la técnica de Kirby-Bauer”

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLES DEPENDIENTE	INDICADORES	METODOLOGIA	INSTRUMENTOS
					ENFOQUE	
¿El extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (Mastuerzo), presentará actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> ?	Determinar si el extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (Mastuerzo) presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	El extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (Mastuerzo) presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	Actividad antibacteriana del extracto etanólico de <i>Tropaeolum majus</i> "mastuerzo" frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i>	- Diámetro de halo de inhibición - Concentración mínima inhibitoria. (numero de colonias <i>Staphylococcus epidermidis</i>)	Cuantitativo	Ficha de observación Ad-hoc del estudio fotoquímico realizado.
PROBLEMAS ESPECIFICOS	OBJETIVO ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICA	VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	NIVEL	Ficha de observación Ad-hoc del estudio microbiológico realizado.
¿Qué tipo de metabolitos secundarios estarán presentes en el extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (Mastuerzo)?	Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (Mastuerzo).		Extracto etanólico de <i>Tropaeolum majus</i> "mastuerzo"	Concentraciones al 25%, 50%, 75% y al 100% del extracto etanólico.	Aplicado	
¿La concentración al 25%, 50%, 75% y al 100% del extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (Mastuerzo) presentará actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Staphylococcus epidermidis</i> ?	Determinar si la concentración al 25%, 50%, 75% y al 100% del extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (Mastuerzo) presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> .	La concentración al al 25%, 50%, 75% y al 100% del extracto etanólico de las flores de <i>Tropaeolum majus</i> L. (Mastuerzo) presenta actividad antibacteriana frente a <i>Staphylococcus epidermidis</i> .				

ANEXO N° 02: TESTIMONIO FOTOGRÁFICO

a) Planta y Flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo).



b) Recolección de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo).



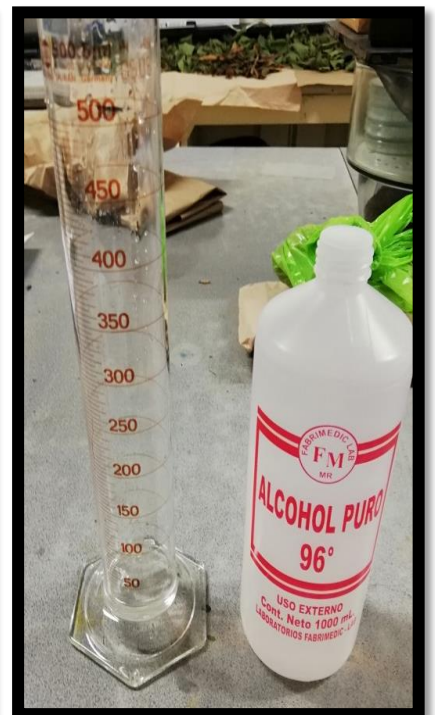
- c) Procesamiento de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo) (lavado y secado).



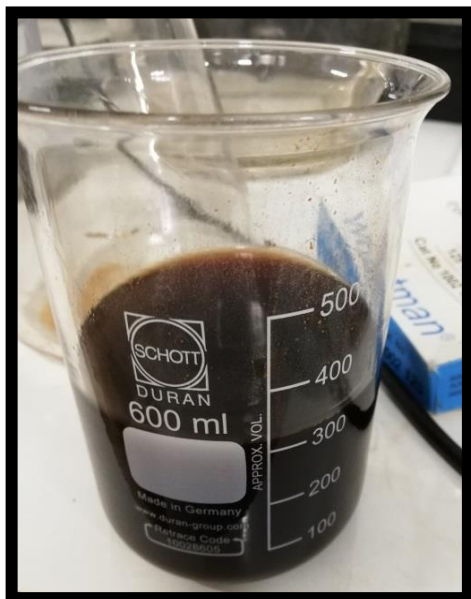
- d) Envolver las flores en papel kraft y llevarlas a estufa a temperatura de 40°C por 5 días.



- e) Pesar 100g de las flores y agregar 800mL de etanol a un frasco color ámbar, dejar macerar por 5 días.



f) Filtrar el extracto por bomba al vacío.

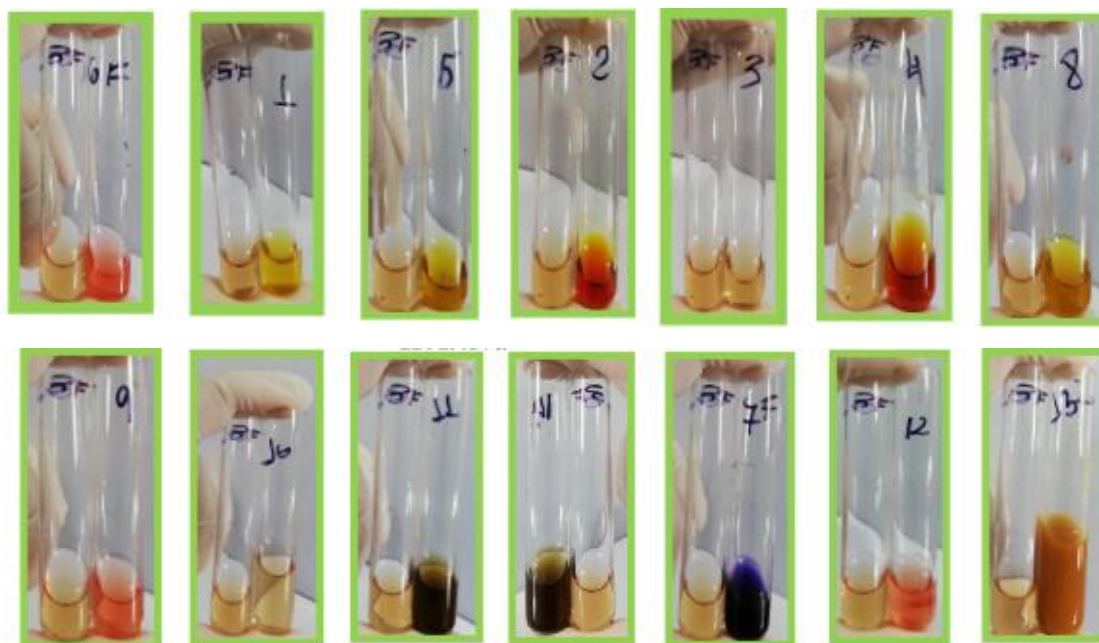


g) El filtrado se vierte en una placa petri y se lleva a estufa a 40° para el concentrado (por 4 días) posteriormente se realiza la marcha fitoquímica.





h) Resultados obtenidos de la marcha fitoquímica.

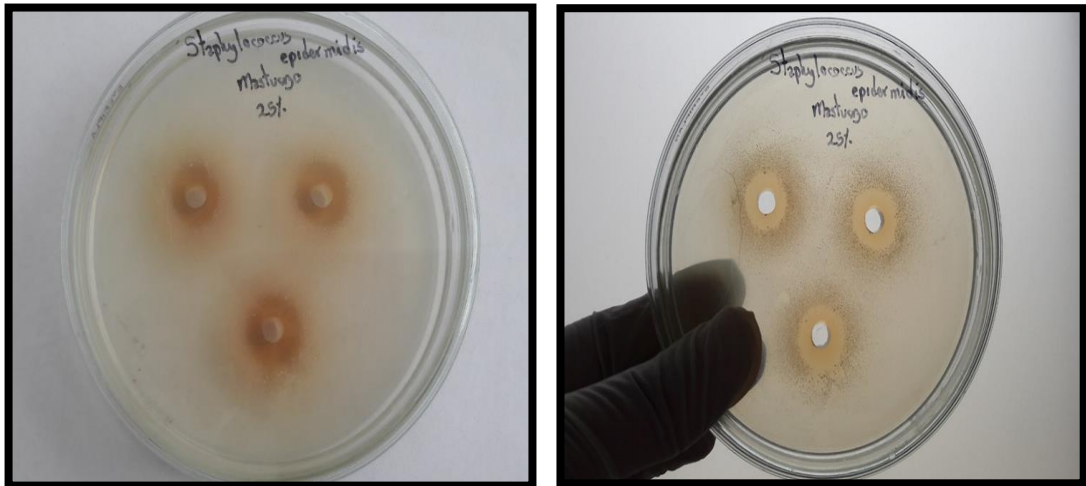


Legenda:

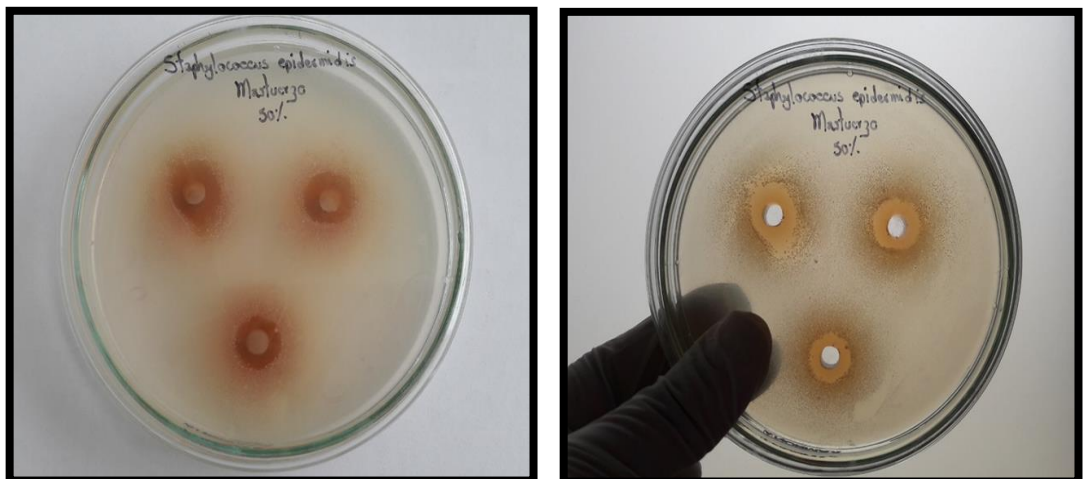
Tubo 6: Flavonoides – Shinoda ++
Tubo 1: Antocianinas ++
Tubo 5: Lactonas – Baljet ++
Tubo 2: Alcaloides – Dragendorff +
Tubo 3: Alcaloides – Mayer -
Tubo 4: Alcaloides – Wagner +
Tubo 8: Cardenólidos – Kedde ++
Tubo 9: Esteroides – Liebermann ++

Tubo 10: Saponinas – Espuma -
Tubo 11: Taninos – Cloruro férrico ++
Tubo 14: Fenoles – Cloruro férrico ++
Tubo 7: Aminoácidos – Ninhidrina ++
Tubo 12: Triterpenos – Liebermann ++
Tubo 13: Azúcares reductores – Fe +

- i) Medios de cultivo - Extracto de *Tropaeolum majus* L. frente *Staphylococcus epidermidis* al 25% - Visión contraluz.



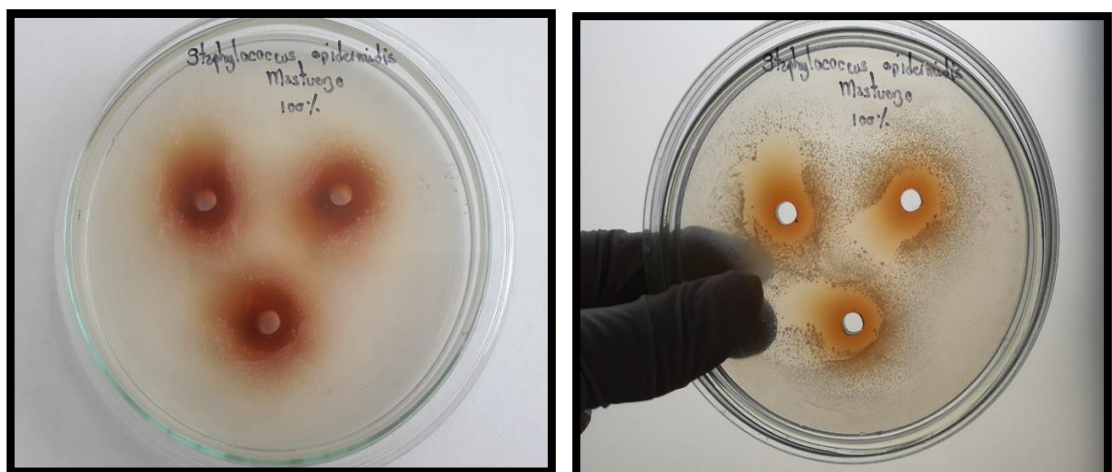
- j) Extracto de *Tropaeolum majus* L. frente *Staphylococcus epidermidis* al 50% - Visión contraluz.



- k) Extracto de *Tropaeolum majus* L. frente *Staphylococcus epidermidis* al 75% - Visión contraluz.



- l) Extracto de *Tropaeolum majus* L. frente *Staphylococcus epidermidis* al 100% - Visión contraluz.



ANEXO N° 03: CERTIFICADO TAXONÓMICO

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C.B.P. N° 3796
Tel: 17512863 RPM 963689079
E-mail: joramde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 – INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

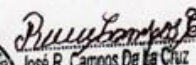
Que, las **Srts: Romero Veramendi, Astrid y Baldeón Mendoza, Isabel**, Bachilleres en Farmacia y Bioquímica, egresadas de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, han solicitado la identificación y certificación botánica de la planta conocida con el nombre vulgar de "**mastuerzo**", la muestra ha sido estudiada y determinada como ***Tropaeolum majus L.***, y según el Sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist. (1981), ocupa categorías taxonómicas.

REINO : Plantae
DIVISIÓN : Magnoliophyta
CLASE : Magnoliopsida
SUBCLASE : Rosidae
ORDEN : Geraniales
FAMILIA : Tropaeolaceae
GENERO : *Tropaeolum*
ESPECIE : *Tropaeolum majus L.*

Nombres vulgares: "mastuerzo",

Se expide la presente certificación para los fines que se estime conveniente.

Lima, 10 de setiembre del 2018


José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jr. Sánchez Silva # 156-2do piso – Urb. Santa Luzmila - Lima 07 /e-mail: joricampos@yahoo.es

**ANEXO N° 04: CERTIFICADO DE LA CEPA *Staphylococcus epidermidis*
ATCC 12228**



Certificate of Quality

Product Name: S. epidermidis ATCC 12228 PK/5
Lot Number: 626056

Product Number: R4606500
Expiration Date: 2020-08-30
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description.
Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10⁴

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Positive Cocci


Biochemical Profile: Vitek 2C GP

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop
pH: N/A

Signed

Product Performance Technologist

ANEXO N° 05: CERTIFICADO DE AGAR MUELLER HINTON



Certificate of Analysis

1.05437.0500 **MUELLER-HINTON** agar for testing the sensitivity of clinically important pathogens

Batch **VMB44637**

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clarity)	clear to opalescent	clear
Appearance (color)	yellowish-brown	yellowish-brown
pH-value (25 °C)	7.2 - 7.8	7.4
Solidification behaviour (2 hrs., 40 °C)	liquid	liquid

	Spec. Values	Batch Values
Inhibition zone diameter/Ampicillin 10 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	10 - 22 mm	18 mm
Inhibition zone diameter/Tetracyclin 30 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	18 - 25 mm	20 mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	10 - 26 mm	23 mm
Inhibition zone diameter/Polymyxin B 300 U/IE (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	12 - 17 mm	13 mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	24 - 32 mm	24 mm
Inhibition zone diameter/Ampicillin 10 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	27 - 36 mm	35 mm
Inhibition zone diameter/Tetracyclin 30 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	19 - 28 mm	25 mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	19 - 27 mm	22 mm
Inhibition zone diameter/Polymyxin B 300 U/IE (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	7 - 15 mm	8 mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	24 - 32 mm	29 mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 (WDCM 00025))	16 - 23 mm	23 mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Enterococcus faecalis ATCC 35186)	18 - 23 mm	21 mm

Incubation: 24 hrs.; 35 °C; aerobic.

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany); +49 6151 73-0
 EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany
 200 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321

Page 1 of 2

ANEXO N° 06: PROTOCOLO DE ANÁLISIS N° 00537-CPF-2018




UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



Leyenda:

- +++ : Reacción muy evidente
- ++ : Reacción evidente
- + : Reacción poco evidente
- : No hubo reacción

Lima, 03 de Diciembre del 2018


.....
Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS
Certification

N° BR23266



ANEXO N° 07: PROTOCOLO DE ANÁLISIS N° 00533-CPF-2018



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00533-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 05168/2018
SOLICITADO POR : ASTRID ROMERO VERAMENDI
MUESTRA : MASTUERZO

NÚMERO DE LOTE : ----
CANTIDAD : ----
FECHA DE RECEPCIÓN : 20 de Noviembre del 2018
FECHA DE FABRICACIÓN : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

MICROORGANISMOS	DIAMETRO DE INHIBICIÓN (mm)					
	Control	Blanco	100%	75%	50%	25%
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	6	9	7	6	6
	30	6	10	7	6	6
	27	6	10	8	6	6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	40	6	16	15	14	13
	40	6	17	15	13	12
	39	6	16	14	14	12

*El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halo de inhibición.

*Concentración del inóculo: 1×10^8 UFC/mL

Lima, 30 de Noviembre del 2018

QF. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>





ANEXO N° 08: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTOS

HOJA DE VALIDACIÓN DE LOS INSTRUMENTOS

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

“Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las flores de *Tropaeolum majus* L. (mastuerzo), frente a *Staphylococcus epidermidis*, por la técnica de Kirby-Bauer”

MARCHA FITOQUÍMICA				
N°	METABOLITOS	ENSAYO	REACCION DE IDENTIFICACION	PROCEDIMIENTO
1	Flavonoides	Ensayo de Shinoda	Naranja Rojo	1mL de extracto + varias limaduras de Mg + 1mL HCL cc (37%)
2	Antocianina	Prueba cualitativa H ₂ SO ₄	Azul Rojo a anaranjado	2 mL de extracto +1mL NaoH diluido 2 mL del filtrado + 6 gotas de H ₂ SO ₄ al 10%
3	Lactonas	Ensayo de Baljet	Anaranjado a rojo oscuro	2mL de extracto +3-4 gotas de reactivo Baljet (acido pierico e hidróxido de sodio)
4	Cardenólidos	Prueba kedde	Azul - violeta	Sol A: 3,5 dinitrobenzoico 2% en metanol Sol B: KOH 2.7% en agua Mazclar sol A + Sol B (1:1) + 1mL del reactivo KEDDE
5	Esteroides	Prueba de Lieberman Burchard	Rojo - anaranjado	1mL anhídrido acético + 1mL cloroformo y enfriar a 0°+ 1gota de H ₂ SO ₄ 1mL del extracto + el reactivo Liebermann.
6	Taninos	Cloruro férrico	Azul oscuro a Verde oscuro	1 mL de extracto + 3-4 gotas de cloruro férrico.
7	Fenoles	Cloruro férrico	Azul oscuro Verde oscuro	1mL de extracto + 3-4 gotas de cloruro férrico.
8	Aminoácidos	Ensayo Ninhidrina	Violeta o Azul violeta	1mL de extracto + 1mL Ninhidrina calentar x 1 min dejar enfriar y observar.
9	Triterpenos	Prueba de Lieberman Burchard	Rojo – rosa	2mL de extracto + 1mL cloroformo por las paredes + 1mL de anhídrido acético.
10	Azúcares reductores	Prueba de Fehling	Rojo ladrillo	1mL de extracto + 1 mL Fehling A + Fehling B
11	Alcaloides	Ensayo de Dragendorff	Anaranjado Marrón	1mL HCL 10%+ 1mL de extracto calentar a 60°c x 10 min y se agrega la solución de reactivo de dragendorff
LEYENDA:				
<ul style="list-style-type: none"> - No realizada (0) - Ausente (-) - Leve (+) - Moderado (++) - Abundante (+++) 				



Ficha de Validación por Juicio de Expertos
UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE *TROPAEOLUM MAJUS* L. (MASTUERZO), FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, POR LA TÉCNICA DE KIRBY-BAUER”

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 este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?.....() () () () (-) ()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?() () () () () (-)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?() () () () () (-)
4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?() () () () () (-)
5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?() () () () (-) ()
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?.....() () () () () (-)

SUGERENCIAS:

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

.....

2. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

.....

3. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....

Fecha: 13 SET 2019

Validado por: [Signature]

D. F. [Signature]



Ficha de Validación por Juicio de Expertos
UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE *TROPAEOLUM MAJUS* L. (MASTUERZO), FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, POR LA TÉCNICA DE KIRBY-BAUER”

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático.

Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.

Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.

En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.

Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.

Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE <i>TROPAEOLUM MAJUS</i> L. (MASTUERZO), FRENTE A <i>STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS</i>, POR LA TÉCNICA DE KIRBY-BAUER”						
N° DE PLACA	CONCENTRACIÓN (%) DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE <i>TROPAEOLUM MAJUS</i> L. (MASTUERZO)				CONTROLES	
					CIPROFLOXACINO 0.125mg/mL	AGUA DESTILADA
	LONGITUD DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)					
	25%	50%	75%	100%	0.125mg/mL	mL
PLACA 1						
PLACA 2						
PLACA 3						
PLACA 4						
PLACA 5						
PLACA 6						



Ficha de Validación por Juicio de Expertos
UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE *TROPAEOLUM MAJUS* L. (MASTUERZO), FRENTE A *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS*, POR LA TÉCNICA DE KIRBY-BAUER”

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 este instrumento se lograrán los objetivos propuestos?.....() () () () (X) ()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?() () () () () (X)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?() () () () () (X)
4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?() () () () () (X)
5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?() () () () () (X)
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?..... () () () () () (X)

SUGERENCIAS:

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

.....

2. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

.....

3. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....

Fecha: 13. Set 2019

Validado por: [Signature]

Mg QF Jessica Maldonado Pérez