



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

**EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO
DEL FRUTO DE *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL)
SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *IN VITRO***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES

Bach. BECERRA COLLAZOS, KIMBERLY MARÍA

<https://orcid.org/0000-0003-0432-1672>

Bach. TORRES CÉSPEDES, JOSÉ EDUARDO

<https://orcid.org/0000-0001-5420-3012>

ASESOR

Mg. LA SERNA LA ROSA, PABLO ANTONIO

<https://orcid.org/0000-0001-7065-012X>

Lima – Perú

2023

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, KIMBERLY MARIA BECERRA COLLAZOS, con DNI 75395977, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el título profesional de Químico Farmacéutico (grado o título profesional que corresponda) de título **“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRANO ETANÓLICO DEL FRUTO DE *Vaccinium corybosum* L. (ARANDANO AZUL) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ,IN VITRO ”**, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO**¹ que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 23 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.



KIMBERLY MARIA BECERRA COLLAZOS
DNI :75395977



Mg. PABLO ANTONIO LA SERNA LA ROSA
DNI: 06121495

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, JOSE EDUARDO TORRES CESPEDES, con DNI 46985860, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el título profesional de Químico Farmacéutico (grado o título profesional que corresponda) de título **“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRANO ETANÓLICO DEL FRUTO DE *Vaccinium corybosum* L. (ARANDANO AZUL) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ,IN VITRO”**, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, **DECLARO BAJO JURAMENTO²** que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 23 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.



(Nombre completo del autor)
(DNI del autor)



Mg. PABLO ANTONIO LA SERNA LA ROSA
DNI: 06121495

6. Apellidos y Nombres
7. DNI
8. Grado o título profesional
9. Título del trabajo de Investigación
10. Porcentaje de similitud

² Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

TESIS. BECERRA-TORRERS

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	15%
2	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	5%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
4	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	Submitted to Universidad Alas Peruanas Trabajo del estudiante	1%
6	publicaciones.uci.cu Fuente de Internet	1%

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 1%

DEDICATORIA

Dedico de manera especial a mis padres, por haberme forjado como la persona que soy y recibir siempre su apoyo incondicional. A mis hermanos quienes siempre estuvieron conmigo día a día ayudándome en todo.

Agradezco a Dios por haberme dado la vida y salud para seguir adelante en mis estudios profesionales.

Eduardo Torres

Dedicado a mis padres: Segundo Livario Becerra Arévalo, Magdali del socorro collazos Sandoval por el gran apoyo para la culminación de nuestra carrera.

Kimberly Becerra

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por concedernos la vida y permitirnos realizar con éxito la finalización de nuestro proyecto.

Los autores

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
ÍNDICE GENERAL.....	iv
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
a. Enfoque y diseño de la investigación.....	4
b. Población, muestra y muestreo.....	4
c. Variables de investigación.....	5
d. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	5
e. Plan metodológico para la recolección de datos.....	6
f. Procesamiento del análisis estadístico.....	8
g. Aspectos éticos.....	9
III. RESULTADOS.....	10
IV. DISCUSIÓN.....	17
a. Discusión de Resultados.....	17
b. Conclusiones.....	19
c. Recomendaciones.....	19
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	21
ANEXOS.....	24
ANEXO A: Instrumento de recolección de datos.....	25
ANEXO B: Matriz de consistencia.....	26
ANEXO C: Operacionalización de las variables.....	27
ANEXO D: Certificado de análisis de la cepa.....	28
ANEXO E: Constancia de identificación botánica.....	30
ANEXO F: Evidencias en fotografías.....	31

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Determinación de la solubilidad del extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) en solventes polares y apolares.....	10
Tabla 2. Determinación de los metabolitos secundarios que presentan efecto antibacteriano.....	11
Tabla 3. Determinación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) al 100%, 75% y 50% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro.....	12
Tabla 4. Prueba de Distribución Normal para cada grupo de Tratamientos.....	14
Tabla 5. Análisis de la Varianza (ANOVA).....	15
Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey.....	15
Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según escala de Duraffourd...	16

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1: Efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) al 100%, 75% y 50% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro.	13
Figura: 2. Recolección de la especie vegetal.....	31
Figura: 3. Preparación de la especie vegetal.....	32
Figura 4. Preparación del procesamiento de macerado de la muestra	33
Figura 5. Evaporación del solvente del macerado	33
Figura 6. Preparación del extracto a diferentes concentraciones	34
Figura 7. Inicio del proceso microbiológico: activación de la cepa	34
Figura 8. Aplicación de los extractos en los cultivos.....	34
Figura 9. Incubación de placas en medio anaeróbico	35
<i>igura 10. Lectura de los halos de inhibición</i>	<i>35</i>
Figura: 11. Pruebas de solubilidad	36

RESUMEN

Objetivo: Demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro

Método: El estudio se basó en un enfoque cuantitativo, de diseño experimental, transversal con una población conformada por 5 kilogramos del fruto de la especie vegetal de *Vaccinium corybosum* L., (arándano azul) cultivado en el caserío de Solecape, distrito de Mochumí, provincia de Lambayeque, el extracto se obtuvo del fruto de la planta mediante maceración alcohólica, se realizaron pruebas de solubilidad frente a solvente polares y apolares, se realizó un estudio fitoquímico y se determinó el efecto antibacteriano mediante el método de difusión en pozo mediante la medición de los halos de inhibición formados sobre cultivos de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Resultados: El extracto de arándano fue soluble en etanol y metanol, medianamente soluble en alcohol terbutílico y agua destilada; ligeramente soluble en acetona y dimetil-sulfóxido; se identificaron como metabolitos secundarios alcaloides, compuestos fenólicos y taninos en cantidad moderada y triterpenos en cantidad escasa; se obtuvieron valores promedio de halo de inhibición de $10,48 \pm 0,31$ mm para el extracto al 50%, al 75% fue de $13,03 \pm 0,40$ mm; al 100% fue de $14,76 \pm 0,26$ mm; por otro lado, el control negativo empleado (etanol 96°) obtuvo halo de inhibición de $6,42 \pm 0,37$ mm y el control positivo obtuvo halo de $29,87 \pm 0,45$ mm.

Conclusión: Se demostró el efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Palabras clave: *Vaccinium corybosum* L., *Streptococcus mutans*, arándano azul, efecto antibacteriano, extracto etanólico.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the antibacterial effect of the ethanolic extract of the fruit of *Vaccinium corybosum* L. (BLUEBERRY) on *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

Method: The study was based on a quantitative, experimental design, cross-sectional approach with a population made up of 5 kilograms of the fruit of the plant species *Vaccinium corybosum* L., (blueberry) grown in the village of solecape, Mochumí district, province of Lambayeque, the extract was obtained from the fruit of the plant by alcoholic maceration, solubility tests were carried out against polar and non-polar solvents, a phytochemical study was carried out and the antibacterial effect was determined by means of the well diffusion method by measuring of the inhibition halos formed on cultures of *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Results: The blueberry extract was soluble in ethanol and methanol, moderately soluble in tert-butyl alcohol and distilled water; slightly soluble in acetone and dimethyl sulfoxide; alkaloids, phenolic compounds and tannins in moderate amounts and triterpenes in scarce amounts were identified as secondary metabolites; average inhibition halo values of 10.48 ± 0.31 mm were obtained for the 50% extract, at 75% it was 13.03 ± 0.40 mm; at 100% it was 14.76 ± 0.26 mm; on the other hand, the negative control used (ethanol 96°) obtained an inhibition halo of 6.42 ± 0.37 mm and the positive control obtained a halo of 29.87 ± 0.45 mm.

Conclusion: The antibacterial effect of the ethanolic extract of the fruit of *Vaccinium corybosum* L. (BLUEBERRY) on *Streptococcus mutans* ATCC 25175 was demonstrated.

Keywords: *Vaccinium corybosum* L., *Streptococcus mutans*, blueberry, antibacterial effect, ethanolic extract.

I. INTRODUCCIÓN

Existen millones de bacterias microscópicas que habitan de manera normal la piel, intestino delgado, garganta y la boca; a pesar que gran parte no causan daño en las personas, algunas si lo hacen, infectando los oídos, garganta, boca u otras partes del cuerpo. *Streptococcus mutans* es una bacteria virulenta, que se encuentra colonizando la cavidad oral y se le asocia con enfermedades como la caries dental, pudiendo llegar a producir endocarditis, bacteriemia y partos prematuros en gestantes. La Organización Mundial de la Salud, en marzo del presente año, señaló que la caries dental es una enfermedad muy frecuente, que lo adolecen cerca de 2000 millones de personas, siendo los más afectados los niños^{1,2}.

Sin embargo, unos de los problemas que están produciendo las bacterias, como *Streptococcus mutans* es la resistencia a los antibióticos, debido a que han ido mutando su información genética durante el transcurso del tiempo por un proceso de selección o adaptación, incluso bajo la acción del antibacteriano. Estudios en Japón, han señalado que el género *Streptococcus spp* ha disminuido su sensibilidad frente a penicilina y ampicilina, sugiriendo además evitar el uso de eritromicina y claritromicina debido a los aislamientos resistentes que se han reportado³

En el Perú, el Hospital Nacional Docente Madre Niño “San Bartolomé” desde el año 2010 han reportado aislamientos de *Streptococcus spp* en cultivos de orina, convirtiéndose en el año 2018 como el tercer microorganismo urinario más frecuente. Otro estudio señaló que el 75.6% de muestras de saliva se han identificado *Streptococcus mutans* genotipo C; también esta bacteria ha sido encontrada en neonatos del Hospital Regional Lambayeque en el 2019, con un porcentaje de colonización de 14.2% en la mucosa oral^{4,5}.

En tal sentido, basados en la realidad problemática mencionada, el problema principal del estudio será ¿Presentará efecto antibacteriano el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro?.

Las bases teóricas de la presente investigación definen a *Vaccinium corybosum* L., como un arbusto perenne y ramificado conocido como “arándano”, puede llegar a medir hasta 2.5m de altura; forma parte de la familia Ericáceas. Originalmente el género *Vaccinium* proviene de los países del hemisferio norte y de los Andes de América del Sur. Esta especie crece en temperaturas de 3° a 17°C, con suelos ligeramente ácidos (pH 4 y 5) y a una altitud entre 1500 y 4700 m.s.n.m. Su fruto es carnoso, de forma esférica, de color azul, textura suave, mide de 5 a 8mm de diámetro, contiene de 15 a 60 semillas y destaca por su alto contenido nutricional en carbohidratos, antioxidantes, minerales y vitaminas. Su Caracterización fitoquímica del fruto del arándano ha evidenciado metabolitos como fenoles, flavonoles, antocianidinas, glicósidos, flavonas y proantocianidinas, las cuales son responsables de sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y regenerador de la piel^{6,7}.

En relación, con *Streptococcus mutans*, es una bacteria patógena virulenta, reportada como causante de la caries dental en las personas, morfológicamente es un coco gran positivo que puede ser observado microscópicamente formando cadenas, tiene la propiedad de formar ácido láctico y cambiar el pH de un medio en ácido. Su hábitat natural es la cavidad oral y las vías respiratorias superiores. Este microorganismo también es responsable de enfermedades como la bacteriemia y endocarditis sobre todo en pacientes con el sistema inmunitario deprimido⁸.

Los antecedentes internacionales que refuerzan nuestro estudio citan a: **Muñoz M.**, el 2020, en su investigación comparó la eficacia antimicrobiana del extracto de arándanos en diferentes concentraciones con Clorhexidina al 0.12% sobre *Porphyromonas gingivales*. Los resultados a las 24 horas de exposición de los extractos de arándanos formaron halos de inhibición de 14mm, 13mm y 8mm en las concentraciones del 100%, 75% y 50% respectivamente, además, para la Clorhexidina formó un halo de 21mm, por lo tanto, el extracto de arándano azul si posee eficacia antibacteriana sobre *Porphyromonas gingivales* similar a la Clorhexidina al 0.12%⁹.

También, **Reyes I. y col.**, en el 2019, en su publicación evaluaron el efecto antibacteriano y antioxidante de los frutos *Vaccinium floribundum* y *P. serótina* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668, in vitro y lo compararon con

arándano deshidratado y clorhexidina al 0.12%. Los resultados de *Vaccinium floribundum* a las 24 horas formó halos de hasta 15mm, el arándano deshidratado formó un halo de 11.3mm y la clorhexidina 13.7mm; a las 48 horas formó halos de 17.3mm, para el arándano deshidratado 14.3mm y 59.3mm para la clorhexidina. Por lo tanto, ambos frutos, incluido el arándano deshidratado, muestran un efecto sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668 a las 24 y 48 horas similar a la clorhexidina¹⁰.

Del mismo modo, **Gustavo S, Tagle G.**, el año 2020, mediante su estudio evaluaron la inhibición de *Streptococcus mutans* por acción del extracto de *Vaccinium floribundum* mediante el método de difusión en disco. Los resultados mostraron que el extracto de *Vaccinium floribundum* al 100% produce halo de inhibición de 14,2mm a las 24 horas y 14,0mm a las 48 horas¹¹.

A continuación, como antecedentes nacionales citaremos a, **Benavides J. y col.**, el 2021, definieron como objetivo evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de *Vaccinium corymbosum* sobre cepas de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615. Los resultados evidenciaron que los extractos en concentraciones de 100mg/ml y 50mg/ml presentan efecto antibacteriano contra *S. pyogenes* con halos inhibitorios de 9.31mm y 7.66mm respectivamente¹².

Por su parte, **Sachún J.**, en el 2019, elaboró su estudio con el objetivo de evaluar el efecto antibacteriano del extracto acuoso del fruto de *Vaccinium corymbosum* en concentraciones del 100%, 75%, 50% y 25% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los resultados mostraron efecto antibacteriano en todas las concentraciones; al 25% formó un halo de 15.3mm, al 50% 19.6mm, al 75% 21.4mm y al 100% 29.3mm¹³.

De igual manera, **Reyes G.**, el año 2019, en su tesis, su objetivo fue demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. En los resultados los extractos demostraron efecto en todas las concentraciones de 50%, 75% y 100% del extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. con halos de 9.5mm, 12.7mm y 16.5mm respectivamente, sin embargo, el grupo control positivo obtuvo el mayor halo de 22.2mm¹⁴.

El objetivo general de la presente investigación es demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

Del mismo modo, la hipótesis general del estudio es, el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) presenta efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

a. Enfoque y diseño de la investigación

El enfoque fue cuantitativo, porque mediante el estudio estadístico de los datos recolectados se dio respuesta a la relación de causa y efecto¹⁵

El diseño correspondió a un experimental, debido a que existió influencia o modificación de las condiciones naturales de las variables para determinar la relación de causalidad entre las variables en estudio¹⁶.

El tipo de investigación correspondió a la transversal, debido a que se analizaron los datos recolectados en un determinado periodo de tiempo¹⁷.

b. Población, muestra y muestreo

Población:

La población de estudio estuvo conformada por 5 kilogramos del fruto de la especie vegetal de *Vaccinium corybosum* L., (arándano azul) cultivado en el caserío de solecape, distrito de Mochumí, provincia de Lambayeque, departamento de Lambayeque, ubicada a 6.6019° de latitud Sur y 79.9369° de Longitud Oeste.

La identificación de la especie botánica estuvo a cargo de un profesional biólogo botánico con experiencia en identificación taxonómicas de especies vegetales de la Universidad Mayor de San Marcos, quien realizó la identificación de la muestra remitida y proporcionó la certificación correspondiente.

Muestra:

La cantidad de muestra necesaria para la investigación fue de 3 kilogramos del fruto de la especie vegetal de *Vaccinium corybosum* L., (arándano azul), el mismo que se recolectó directamente de la zona de cultivo y fue transportado en bolsas de papel kraft al laboratorio para

iniciar su selección, lavado y desinfección.

El muestreo seleccionado correspondió al no probabilístico, por conveniencia atendiendo a la facilidad de acceso y disponibilidad del investigador¹⁸.

c. Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico del fruto de la especie vegetal de *Vaccinium corybosum* L., (arándano azul)

Definición conceptual: Producto obtenido por medio del contacto del solvente con el fruto de una planta.

Definición operacional: Maceración con etanol 96° a temperatura ambiente

Variable dependiente: Efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *in vitro*.

Definición conceptual: Inhibición en el crecimiento bacteriano de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Definición operacional: Medición la zona de inhibición.

d. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

La técnica se realizó mediante la observación.

El instrumento fue la ficha de recopilación de datos, las cuales se describen a continuación.

Ficha de recolección de datos - Solubilidad: Permitió registrar los datos recolectados con respecto si es, insoluble, medianamente soluble y soluble en diferentes solventes.

Ficha de recolección de datos - Fitoquímico: Permitió registrar los datos recolectados con respecto al tipo me metabolito presente en el extracto¹⁹.

Ficha de recolección de datos - Microbiología: Permitió recolectar los datos obtenidos con respecto al tamaño de la zona de inhibición para los grupos experimentales y control, la que adaptada del trabajo de investigación de Cosio H, Rodriguez H (2017)²⁰

e. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1 Elaboración del extracto

Fue realizado según el método propuesto por Flores L (2018)²¹, el extracto se obtuvo por medio de la maceración del licuado del fruto de la especie vegetal de *Vaccinium corybosum* L., (arándano azul) mediante el empleo de una licuadora casera, luego fue colocado en maceración por 10 días y filtrado mediante papel de filtro, el filtrado pasó a ser evaporado en estufa a 45°C y se obtuvo de esta manera el extracto seco, el cual fue reconstituido con etanol a las concentraciones de 50mg/ml, 75 mg/ml y 100 mg/ml.

II.5.2 Prueba de solubilidad

Se elaboró según la técnica empleada por Saravia D, Quilash F (2019)²², en la cual el extracto etanólico del fruto de la especie vegetal de *Vaccinium corybosum* L., (arándano azul) fue expuesto a diferentes solventes para determinar la solubilidad aplicando 1ml de cada solvente (agua, etanol, metanol, cloroformo, acetona, alcohol terbutílico, dimetilsulfoxido), a 1 ml del extracto, la solubilidad se registró en la ficha de recolección de datos indicando el tipo de solubilidad: insoluble, medianamente soluble y soluble.

II.5.3 Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica empleada correspondió a la propuesta por Olga Lock, modificado por Correa A y Noé P.(2019)²³ su trabajo de investigación el cual sigue la siguiente metodología.

Identificación de alcaloides.

Reacción de Dragendorff. Se emplearon para la identificación de alcaloides presentes en el extracto etanólico de la planta, para lo cual se colocó 1 ml del extracto al 100% en un tubo de ensayo y se agregó III gotas del reactivo de Dragendorff por las paredes del tubo, la aparición de una coloración naranja ladrillo, indica una reacción positiva.

Ensayo de saponinas.

Se tomó 1 ml del extracto al 50% y se colocó en un tubo de ensayo,

luego se adicionó 5 ml de agua destilada y se agitó vigorosamente por 5 minutos dejándolo en reposo, si se observa la presencia de espuma de más de 2mm por más de 2 minutos, es confirmatorio de la presencia de saponina.

Identificación de flavonoides. (Shinoda)

Para esta determinación se empleó el reactivo de Shinoda, se tomó 1 ml del extracto etanólico de la muestra y se colocó 1 ml de Ac. Clorhídrico concentrado por las paredes del tubo, luego se agregó un pedazo de cinta de magnesio metálico, se esperó 5 minutos y se agregó un mililitro de alcohol isoamílico por las paredes del tubo. La presencia de una coloración amarillo, naranja o rojo intenso en la interfase demuestra la presencia de flavonoides.

Identificación de compuestos fenólicos y/o taninos.

En esta prueba se utilizó el reactivo de tricloruro férrico, colocándose una alícuota de 1 ml del extracto etanólico de la planta y se agregó acetato de sodio hasta pH neutro, luego se aplicaron III gotas del reactivo tricloruro férrico al 5%, la formación de una coloración rojo-vino, indica la presencia de taninos, del tipo pirocatecólicos, un color verde intenso, indica la presencia de taninos del tipo pirogalactánicos y un color azul indica la presencia de compuestos fenólicos.

Identificación de polisacáridos.

Se tomó una cantidad de 2 ml del extracto etanólico de las hojas de *Ocimum basilicum* L. (albahaca) y se agregó en un tubo de ensayo de vidrio, llevándose a una temperatura de 0°C a 5°C en una refrigeradora, luego de permanecer por 20 minutos fueron retirados de la misma, observándose si se forma una consistencia gelatinosa que sería la reacción positiva para la determinación de mucilagos.

Identificación de triterpenos y esteroides.

Para la determinación de estos compuestos se hizo uso del reactivo de Liebermann-Burchard, a 1 ml del extracto etanólico se agregó 0.5 ml de ácido acético y se mezcló vigorosamente, luego se dejó caer IV gotas de ac. Sulfúrico concentrado por las paredes, hasta la aparición de una coloración rojo-rosado que confirma la reacción.

Identificación de aminoácidos

En esta reacción se tomó un mililitro del extracto etanólico y se adicionó en un tubo de ensayo, agregando III gotas de reactivo de Ninhidrina 2% y luego fue llevado a calentar por 10 minutos en baño maría a 60°C, la colocación azul violeta indica la presencia de aminoácidos.

Identificación de Quinonas.

Para la identificación de quinonas se tomó 1 gr del extracto seco y se agregó 3 ml de cloroformo, luego se le agregó 1 ml de NaOH 5% y se agito, si la fase alcalina se torna a un color rosado, es confirmatorio de la presencia de quinonas.

II.5.4 Actividad antibacteriana

Fue realizada siguiendo los procedimientos empleados por Cosio H, Rodriguez H (2017), para lo cual la determinación de la actividad antibacteriana se realizó por medio de difusión en pozo para lo cual primero se activó la cepa en agar MacConkey mediante la aplicación del liofilizado reconstituido con agua estéril empleando el método en estrías, luego se llevó a incubación por 48 horas a 36°C, luego de este periodo de tiempo se visualizó el crecimiento bacteriano.

Se hicieron dos asadas de las colonias formadas y se llevaron a dilución con suero fisiológico a una concentración de 1.5×10^8 UFC mediante la comparación con el 0.5 del escalímetro de McFarland.

De esta última dilución se realizaron los sembrados en placas con agar Mueller Hinton, y luego se trabajó en 15 placas 3 pocitos y en otras 15 placas 2 pocitos lo que se emplearon para aplicar los tratamientos experimentales y controles respectivamente. En cada pocito se agregaron 35 μ L de cada muestra y se llevaron a incubación por 24 horas luego de los cuales se identificaron los halos de inhibición y se midieron para luego haberlos realizados en la ficha de recolección de datos.

f. Procesamiento del análisis estadístico

El procesamiento del análisis estadístico fue realizado empleado primero estadística descriptiva para mostrar el comportamiento de los datos recolectados, así mismo, se aplicaron estadística inferencial para determinar

la normalidad y distribución homogéneas de las varianzas mediante la aplicación de la prueba de Shapiro-Wilk y la prueba de Levene, para la contrastación de la hipótesis del estudio se aplicaron la prueba de ANOVA y Tukey con un nivel de significancia de 0.05 empleando el programa estadístico SPSS versión 26²⁴.

g. Aspectos éticos

Por ser un estudio experimental in vitro con manejo de material biológico de alto riesgo se practicaron los criterios y principios de bioseguridad en el laboratorio siguiendo las guías y protocolos de los manuales internacionales en laboratorios de ensayo para evitar riesgo en las personas participantes; así mismo, se dispuso de procesos para evitar la contaminación del medio ambiente con la contaminación de residuos biológico mediante las normas establecidos por el Ministerio de Salud. Así mismo, los investigadores se comprometieron a cumplir con la originalidad del presente trabajo por lo cual son los únicos responsables de su contenido, sometiéndonos a las normas y sanciones que estipule la universidad en caso de incurrir en falta^{25,26}.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Determinación de la solubilidad del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) en solventes polares y apolares.

Tubo	Solvente empleado	Solubilidad en el solvente
1	Alcohol Terbutílico	++
2	Acetona	+
3	Agua destilada	++
4	Cloroformo	-
5	Hexano	-
6	Etanol	+++
7	Metanol	+++
8	Dimetil-sulfóxido	+

Leyenda:

- ❖ (+++): Soluble
- ❖ (++): Medianamente soluble
- ❖ (+): Ligeramente soluble
- ❖ (-): insoluble

Interpretación:

En la **tabla 1.** se observan los resultados del análisis de la solubilidad del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) en diferentes solventes, observándose que este es soluble en etanol y metanol, es medianamente soluble en alcohol terbutílico y agua destilada; ligeramente soluble en acetona y dimetil-sulfóxido y es insoluble en cloroformo y hexano, por lo tanto, se observa mayor afinidad por solventes con características polares.

Tabla 2. Determinación de los metabolitos secundarios que presentan efecto antibacteriano.

Metabolitos Secundarios	Reactivos	Reacción	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	Color naranja ladrillo	++
Quinonas	Bortrager	Coloración rosa-rojiso	-
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	Coloración rojo-vinoso	++
Taninos		Coloración verdosa	++
Mucílagos		Aspecto gelatinoso	-
Flavonoides	Antocianidina	Anillo marron interfase	-
<u>Triterpenos</u> / Esteroides	Liebermann Burchard	Coloración rojisa	+
Aceite y grasas	Sudan III	Rojo intenso	-
Saponinas	Espuma	Formación de espuma	-

Leyenda:

Ausente (-)
 Escaso (+)
 Moderado (++)
 Abundante (+++)

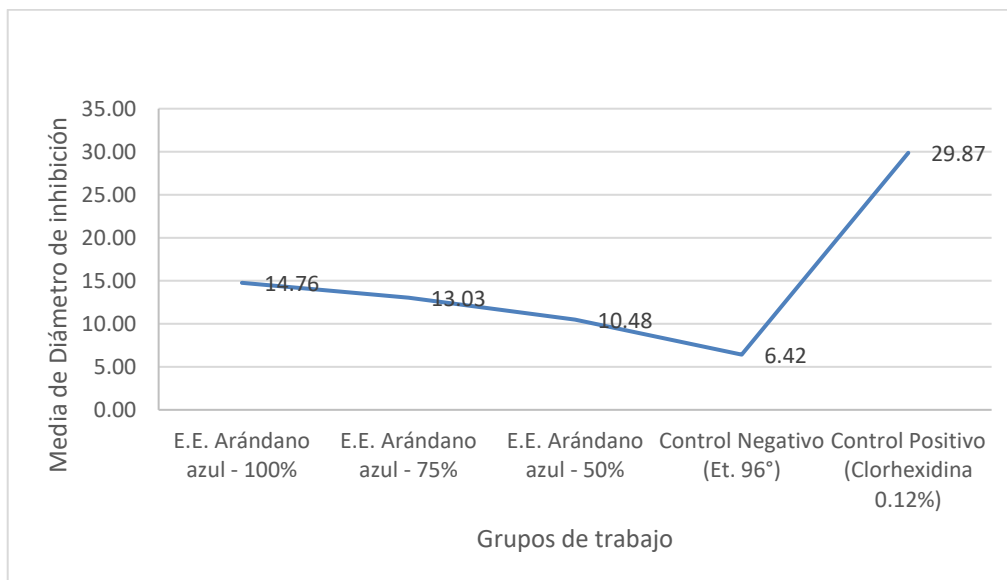
En la tabla 2 se muestra el resultado de la marcha fitoquímica obtenida al exponer del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) a diferentes reactivos los cuales al reaccionar con las estructuras moleculares de los metabolitos muestran cambios de coloración, precipitado, turbidez, entre otros; los metabolitos secundarios encontrados son alcaloides, compuestos fenólicos y taninos en cantidad moderada; triterpenos en cantidad escasa y no se evidenció presencia de quinonas, compuestos fenólicos, mucílagos, flavonoides, aceites, grasas y saponinas.

Tabla 3. Determinación del efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) al 100%, 75% y 50% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)								
	N°	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
E.E. Arándano azul - 100%	10	14,76	0,26	0,08	14,57	14,95	14,36	15,12
E.E. Arándano azul - 75%	10	13,03	0,40	0,13	12,74	13,31	12,30	13,65
E.E. Arándano azul - 50%	10	10,48	0,31	0,10	10,26	10,71	10,06	10,97
Control Negativo (Et. 96°)	10	6,42	0,37	0,12	6,15	6,68	5,92	6,97
Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)	10	29,87	0,45	0,14	29,55	30,20	29,23	30,49

En la **tabla 3**. Se puede apreciar el análisis realizado a los datos del tamaño del halo de inhibición de cada grupo de análisis mediante el programa SPSS versión 26 para obtener los datos estadísticos como media, desviación estándar, los límites de confianza y valores máximo y mínimo encontrados de los valores promedio de los halos de inhibición obtenidos por el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) al 50%, 75% y 100% frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, obteniendo valores promedio de halo de inhibición de $10,48 \pm 0,31$ mm para el extracto al 50%, al 75% fue de $13,03 \pm 0,40$ mm; al 100% fue de $14,76 \pm 0,26$ mm; por otro lado, el control negativo empleado (etanol 96°) obtuvo halo de inhibición de $6,42 \pm 0,37$ mm y el control positivo obtuvo halo de $29,87 \pm 0,45$ mm; demostrando efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, al ser comparados los halos de inhibición formados con el grupo control negativo.

Figura 1: Efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) al 100%, 75% y 50% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro.



En la **figura 1.** permite observar de manera visual los promedios de los halos de inhibición con su respectivo rango de variación con respecto a la media, del mismo modo, se observa el comportamiento del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) al 100%, 75% y 50%, observándose un efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a mayores concentraciones, así mismo, se observan diferencias significativas entre los halos de inhibición de los grupos control con respecto a los grupos experimentales.

Comparación del efecto antibacteriano de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro frente a los extractos etanólicos del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) con la Clorhexidina al 0.12%

Hipótesis de contrastación

H₀: El extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) no tiene mayor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro que la Clorhexidina al 0.12%.

H₁: El extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) tiene mayor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro que la Clorhexidina al 0.12%.

Análisis de los datos recolectados

Tabla 4. Prueba de Distribución Normal para cada grupo de Tratamientos

	Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diámetro Del Halo De Inhibición (Mm)	E.E. Arándano azul - 100%	0,943	10	0,582
	E.E. Arándano azul - 75%	0,960	10	0,787
	E.E. Arándano azul - 50%	0,929	10	0,439
	Control Negativo (Et. 96°)	0,901	10	0,226
	Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)	0,934	10	0,486

Interpretación:

Se muestra el análisis realizado las pruebas de Shapiro-Wilk para confirmar la distribución normal de los datos analizados, con un nivel de confianza del 95,00%, se observa que el nivel de significancia calculado en tabla supera el nivel de significancia de 0,05 establecido por el estudio, por lo tanto, se confirma que todos los grupos analizados presentan distribución normal.

Tabla 5. Análisis de la Varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	Df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	3192,31	4,00	798,08	5959,32	0,00
Dentro de grupos	6,03	45,00	0,13		
Total	3198,34	49,00			

Interpretación:

Se observa en la **tabla 4**, la prueba de ANOVA o análisis de la varianza aplicada a los grupos de los datos mediante el programa SPSS versión 26, luego del análisis se observa un p-valor obtenido menor al nivel de significancia del estudio; por lo tanto, la prueba nos confirma que existe diferencia estadísticamente significativa en al menos uno de los grupos de datos.

Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

DIÁMETRO DE INHIBICIÓN						
HSD Tukey ^a						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control Negativo (Et. 96°)	10	6,42				
E.E. Arándano azul - 50%	10		10,48			
E.E. Arándano azul - 75%	10			13,03		
E.E. Arándano azul - 100%	10				14,76	
Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)	10					29,87
Sig.		1,000	1,000	1,000	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 = 15,000.

Interpretación:

La tabla 6, muestra un análisis complementario a la prueba de ANOVA el cual se realizó mediante la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos, este análisis

determinó diferencias estadísticamente significativas entre todos de los grupos de los datos mostrando en la tabla superior según niveles el grado de estas según tamaño de halo de inhibición. Se observa que el control positivo de clorhexidina obtuvo mayor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175[®], seguido por las concentraciones al 100%, 75% y 50% del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. respectivamente y finalmente el control negativo se ubica en el nivel inferior sin actividad antibacteriana.

Conclusión:

Del análisis de los datos se rechaza la Hipótesis alterna y se acepta la hipótesis Nula que indica que el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) no tiene mayor efecto antibacteriano sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro que la Clorhexidina al 0.12%.

Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antibacteriana según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control Negativo (Et. 96°)	6,42			
E.E. Arándano azul - 50%		10,48		
E.E. Arándano azul - 75%		13,03		
E.E. Arándano azul - 100%		14,76		
Control Positivo (Clorhexidina 0.12%)				29,87

En la **tabla 7**, se muestra la escala comparativa de Duraffourd mediante la cual se puede determinar la sensibilidad de *Streptococcus mutans* con respecto a los grupos de trabajo, se observa que este hongo es altamente sensible al control positivo (clorhexidina), sensible al extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL), así mismo, presenta sensibilidad nula al control negativo.

IV. DISCUSIÓN

a. Discusión de Resultados

Streptococcus mutans es una de las bacterias que se presenta en casi todas las personas generalmente en la mucosa oral, pero puede encontrarse en otras partes del organismo produciendo complicaciones que pueden conllevar a la muerte, actualmente el desarrollo de resistencia bacteriana ha llevado a una alerta sanitaria y el desarrollo de nuevos fármacos con mayor actividad antibacteriana, sin embargo, esta lucha parece no ganarse, volcándose las soluciones en el uso de especies vegetales con acción antibacteriana, motivo por el cual, la presente investigación planteo sus objetivos relacionados con la determinación del efecto antibacteriano de una especie vegetal de abundante crecimiento y muy común en el departamento de Lambayeque como es *Vaccinium corybosum* L., (arándano azul), cuyos resultados se discuten a continuación.

Con respecto a los resultados obtenidos para el primer objetivo, se determinó solubilidad del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) en solventes polares y apolares dando como resultado que el extracto es soluble en etanol y metanol, es medianamente soluble en alcohol terbutílico y agua destilada; ligeramente soluble en acetona y dimetil-sulfóxido, lo que demuestra las características polares de los componentes que constituyen el extracto.

En cuanto al segundo objetivo planteado, sobre la determinación de metabolitos secundarios que pueden presentar efecto antibacteriano, se logró determinar la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos y taninos en cantidad moderada, así como, triterpenos en cantidad escasa, estos metabolitos como demuestran algunos estudios tienen potencial actividad antibacteriana lo que se relaciona a la variada acción sobre la pared celular de la bacteria, desestabilizando el equilibrio funcional de esta.

Por otro lado, con respecto al tercer objetivo se determinó el efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) al 100%, 75% y 50% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro mediante la evaluación del tamaño de halo de inhibición formado encontrándose valores promedio de $10,48 \pm 0,31$ mm para el extracto al 50%, al 75% fue de $13,03 \pm 0,40$ mm; al 100% fue de $14,76 \pm 0,26$ mm; por otro lado, el control negativo

empleado (etanol 96°) obtuvo halo de inhibición de $6,42 \pm 0,37$ mm; al comparar los halos de inhibición formados por el extracto y el grupo control se confirma el efecto antibacteriano del extracto; por su parte Muñoz (2020), demostró la eficacia antimicrobiana del extracto de arándano a las concentraciones del 100%, 75% y 50% frente a sobre *Porphyromonas gingivales* obteniendo halos de inhibición similares con promedios de 14mm, 13mm y 8mm, del mismo modo, Reyes y col. (2019), muestra halos de 15mm para el extracto etanólico de arándano, 11.3mm para el arándano deshidratado, diferencias que pueden corresponder a la variedad de arándano (*Vaccinium floribundum*) empleado, además Reyes (2019), encontró resultados similares con el extracto etanólico de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli*, con halos de inhibición de 9.5mm, 12.7mm y 16.5mm para las concentraciones de 50%, 75% y 100% respectivamente, las diferencias presentadas reflejan la acción sobre la especie en estudio; por su parte Gustavo y Tagle (2020), encontraron halos de inhibición de 14,2mm a las 24 horas y 14,0mm a las 48 horas en la misma variedad de arándano; pero estos resultados se contraponen a los obtenidos por Benavides y col. (2021), que fueron de 9.31mm y 7.66mm respectivamente a las concentraciones de 100mg/ml y 50mg/ml, frente a *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, valores inferiores a los encontrados, pero se debe remarcar la diferencia en este caso, con respecto a la especie biológica evaluada, otro estudio realizado por Sachún (2019), encontró halos de mayor tamaño a las del extracto acuoso del fruto de *Vaccinium corymbosum* a las concentraciones del 100%, 75%, 50% y 25% sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, los que fueron al 25% de 15.3mm, al 50% de 19.6mm, al 75% de 21.4mm y al 100% de 29.3mm, considerándose la diferencia del solvente empleado en el extracto y la especie microbiológica empleada, diferencias que pueden reflejar los resultados encontrados.

Finalmente, al comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) a las diferentes concentraciones con la Clorhexidina al 0.12% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, se logró demostrar mediante pruebas estadísticas que clorhexidina al 0.12% posee mayor efecto antibacteriano, así mismo, empleando la escala de Durafourd para evaluar la sensibilidad antibacteriana mediante la evaluación de los halos de inhibición se demostró mayor sensibilidad antibacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a clorhexidina, también Muñoz (2020), demostró mayor actividad de la Clorhexidina

al 0.12% al comparar con el efecto antibacteriano sobre *Porphyromonas gingivales*, sin embargo, Reyes y col. (2019), encontró mayor efecto en la clorhexidina 0.12% (13.7mm) en comparación con el extracto de arándano (*Vaccinium floribundum*) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 35668 a las 24 horas, cambiando esta efecto a 48 horas donde se mostró el efecto antibacteriano superior al extracto de arándano (59.3mm),

b. Conclusiones

- Se demostró el efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro
- El extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) presentó ser soluble (+++) en etanol y metanol; solubilidad media (++) en alcohol terbutílico y ligeramente soluble (+) en agua destilada, acetona y dimetil-sulfóxido e insoluble (-) en cloroformo y hexano.
- Los metabolitos secundarios encontrados en el extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. con potencial efecto antibacteriano son alcaloides (++) , compuestos fenólicos (++) , taninos (++) y triterpenos (+).
- El efecto antibacteriano del extracto etanólico del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, in vitro mediante los halos de inhibición de $10,48 \pm 0,31$ mm para el extracto al 50%, al 75% fue de $13,03 \pm 0,40$ mm; al 100% fue de $14,76 \pm 0,26$ mm.
- Los extractos etanólicos del fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL) presentaron menor efecto que la Clorhexidina al 0.12% (halos de inhibición de $29,87 \pm 0,45$ mm) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

c. Recomendaciones

- Diferentes especies vegetales han demostrado actividad frente a diferentes microorganismos, dos diferentes estudios realizados sobre estas demuestran lo mencionado, por lo tanto, se recomienda realizar otros estudios que permitan demostrar la actividad antibacteriana encontrada en el fruto de *Vaccinium corybosum* L. (ARÁNDANO AZUL).
- Evaluar en su integridad las distintas partes de la planta y verificar su efecto

antibacteriano frente a diferentes microorganismos.

- Promover la producción en las oficinas farmacéuticas bajo diferentes formulaciones para tratamiento antibacterianos.
- Evaluar mediante estudios de toxicidad in vitro los riesgos del uso de estos preparados en humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Machado T, Reyes B. Streptococcus mutans, principal cariogénico de la cavidad bucal. Revista Científico Estudiantil [Internet]. 2021;4(3). Available from: <http://www.revprogaleno.sld.cu/index.php/progaleno/article/view/233/22>
2. OMS. Salud bucodental [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2022. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
3. Jaramillo A, Cobo C, Moreno Y, Ceballos A. Resistencia antimicrobiana de Streptococcus agalactiae de origen humano y bovino. CES Medicina Veterinaria y Zootecnia [Internet]. 2018;13(1):62–79. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/cmzv/v13n1/1900-9607-cmvz-13-01-62.pdf>
4. Delgadillo A, Campodónico C, Evaristo T, Cáceres L, Gómez D, Chacón P. Presencia de Streptococcus Mutans Genotipo C en niños y adolescentes peruanos con caries. Odovtos International Journal of Dental Sciences [Internet]. 2018;20(3):105–13. Available from: <https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/7095/Rodr%C3%a9uez%20Silva%20Mar%C3%ada%20Roc%3%ado.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. Pulido A, Soto J. Incremento de aislamientos de Streptococcus agalactiae en cultivos de orina en un hospital materno-infantil de Lima, Perú. Anales de la Facultad de Medicina [Internet]. 2018; Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832019000200023
6. Lujan M, Ayala C, Castillo E, Torres C, Durand C. Vaccinium spp.: Características cariotípicas y filogenéticas, composición nutricional, condiciones edafoclimáticas, factores bióticos y microorganismos benéficos en la rizosfera. Arneloa [Internet]. 2018 Jan 1;25(2):109–20. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2413-32992018000200012&script=sci_arttext&tIng=en
7. Meléndez M, Flor L, Sandoval M, Vasquez W, Racines M. Vaccinium spp.: Características cariotípicas y filogenéticas, composición nutricional, condiciones edafoclimáticas, factores bióticos y microorganismos benéficos en la rizosfera. Scientia Agropecuaria [Internet]. 2021;12(1). Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172021000100109
8. Ojeda J, Oviedo E, Andrés L. Streptococcus mutans y caries dental. Revista CES Odontología [Internet]. 2016;26(1):1–13. Available from:

<http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>

9. Muñoz M. Estudio comparativo de las propiedades antimicrobianas del extracto de arándano frente a la clorhexidina al 0,12%, en el efecto inhibitorio de un periodontopatógeno (*Porphyromonas Gingivalis*) estudio in vitro [Internet]. 2020. Available from: https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/23422/1/MariadelPilar_MunozOviedo.pdf
10. Reyes I, Santacruz S, Castro M, Villacres C, Chavez M, Armas A. Efecto antibacteriano y antioxidante de frutos rojos ecuatorianos sobre *Streptococcus mutans*: estudio in vitro | *Odontología Vital*. *Odontología Vital* [Internet]. 2019;31:23–30. Available from: <https://revistas.ulatina.ac.cr/index.php/odontologiavital/article/view/323/373>
11. Gustavo S, Tagle G. Inhibición de *Streptococcus mutans* con extractos de *Rubus ulmifolius*, *Passiflora mollissima* y *Vaccinium floribundum*. *Revista Espamciencia*. 2020;
12. Benavides J, Coñez J. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcoholico de *Vaccinium corymbosum* L. (arandanos) en cepas de *Streptococcus mutans* [Internet]. 2021. Available from: <https://repositorio.uoosevelt.edu.pe/handle/ROOSEVELT/469>
13. Sachún J. Efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Vaccinium corymbosum* “arandano” comparado con mupirocina sobre *Vtaphylococcus aureus* ATCC 25923 estudio in vitro. 2019.
14. Reyes G. Efecto antibacteriano in vitro de *Vaccinium corymbosum* L. sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. [Internet]. [Trujillo]; 2019. Available from: https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/11420/ReyesCasta%c3%b1eda_G.pdf?sequence=1&isAllowed=y
15. Pavón P, Gogeoascoechea M. Metodología de la Investigación II. Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias de la Salud [Internet]. 2014 [cited 2022 May 16];44. Available from: <http://sapp.uv.mx/univirtual/especialidadesmedicas/mi2/modulo1/docs/Diseñosde...pdf>
16. Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Available from: http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf
17. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación [Internet]. 6ta ed. México, D.F.: Mc Graw Hill; 2014. Available from: https://periodicooficial.jalisco.gob.mx/sites/periodicooficial.jalisco.gob.mx/files/metodologia_de_la_investigacion_-_roberto_hernandez_sampieri.pdf
18. Lopez P. Poblacion, muestra y muestreo. Punto cero [Internet]. 2016 [cited 2022 May 16];09(08). Available from:

http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1815-02762004000100012

19. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales - Departamento Académico de Ciencias PUCP Departamento Académico de Ciencias PUCP [Internet]. 3era ed. Pontificia Universidad Católica del Perú. 2016 [cited 2022 Jun 9]. Available from: https://departamento.pucp.edu.pe/ciencias/pub_dpto/investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales/
20. Cosio H, Rodríguez H. Efecto in vitro del extracto hidroalcohólico de albahaca (*Ocimum basilicum*) sobre el crecimiento de *Actinomyces viscosus* (In vitro effect of the hydroalcoholic extract of basil (*Ocimum basilicum*) on the growth of *Actinomyces viscosus*). *Ciencia y Desarrollo*. 2017 Jun 28;20(1):65.
21. Flores L. Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Ocimum basilicum* "albahaca" sobre *Escherichia coli* ATCC27923 comparado con ciprofloxacino. *Universidad César Vallejo*. 2018;0-2.
22. Saravia D, Quillash F. Extracto hidroalcohólico de acibar del Aloe Vera y su efecto antifúngico sobre cultivos de *Trichophyton rubrum* Estudios in vitro. 2019.
23. Correa A. y Noé P. Actividad antimicrobiana del del aceite esencial de las hojas de *Moringa oleífera* (moringa) frente a las cepas de *Staphylococcus aureus*. 2019.
24. Díaz V. Metodología de la Investigación Científica y Bioestadística. 2da ed. RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. 564 p.
25. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios. PAHO. 2016;
26. Organización Mundial de la Salud. Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos. Red PARF Documento técnico N° 6. 2010;(6):87.

ANEXOS

ANEXO A: Instrumento de recolección de datos

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL FRUTO DE <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) SOBRE <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, IN VITRO					
Número de placas	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL	
	100%	75%	50%	Control Negativo Etanol 96°	Control positivo Clorhexidina 0.12%
Placa N°01	14,82	12,87	10,46	6,35	29,94
Placa N°02	14,68	12,30	10,97	6,08	30,02
Placa N°03	14,81	13,41	10,49	6,36	30,35
Placa N°04	14,48	13,65	10,06	6,06	29,23
Placa N°05	14,46	12,76	10,20	6,38	30,46
Placa N°06	14,92	13,01	10,93	6,31	29,48
Placas N° 07	15,06	12,86	10,42	6,97	29,75
Placa N° 08	14,36	13,14	10,46	6,96	29,61
Placa N° 09	14,89	12,79	10,12	6,78	29,41
Placa N° 10	15,12	13,47	10,71	5,92	30,49

ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Presentará efecto antibacteriano el extracto etanólico de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro?	Demostrar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro	el extracto etanólico de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) presenta efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuál será la solubilidad del extracto etanólico de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) en solventes polares y apolares?	Determinar la solubilidad del extracto etanólico de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) en solventes polares y apolares.	El extracto etanólico de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) es soluble en solventes polares y apolares
¿Cuáles serán metabolitos secundarios con efecto antibacteriano el extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL)?	Determinar los metabolitos secundarios que presentan efecto antibacteriano	El extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) presenta metabolitos secundarios con efecto antibacteriano.
¿Cuál será el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) al 100%, 75% y 50% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro?	Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) al 100%, 75% y 50% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro	El extracto etanólico de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) al 100%, 75% y 50% tiene efecto antibacteriano al 100%, 75% y 50% sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro
¿Cuál será el efecto antibacteriano frente a <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 de los extractos etanólicos del fruto de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) comparado con Clorhexidina al 0,12%?	Comparar el efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro frente a los extractos etanólicos del fruto de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) con la Clorhexidina al 0.12%	El extracto etanólico del fruto de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL) tiene mayor efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175, in vitro que la Clorhexidina al 0.12%.

ANEXO C: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
Extracto etanólico de <i>Vaccinium corybosum</i> L. (ARÁNDANO AZUL)	Producto obtenido por medio de un proceso físico que contiene los metabolitos de la planta	Maceración por 10 días con etanol 96°	Concentración	Porcentaje	Razón	3	100 75 50
Efecto antibacteriano sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Acción de inhibir o disminuir el crecimiento bacteriano de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Medición del tamaño de los halos de inhibición	Halo de inhibición	Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

ANEXO D: Certificado de análisis de la cepa



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Streptococcus mutans Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-28** Reference Number: ATCC® 25175™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/9/30 Release Information: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2020/10/24
Performance	
Macroscopic Features: Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the S:AP other is small, circular and translucent. Microscopic Features: Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and Gram Stain (1) predominately in chains	Medium: Method:
ID System: MALDI-TDF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vittek: Although the Vittek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p>	
<p><small>⚠️ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p>	
 <small>REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT # 265.43</small> 	<small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 <small>TESTING CERT. #2655.01</small>	<small>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No organism identification possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Streptococcus mutans
 Sample Description: 0266
 Sample ID: 266-28
 Sample Creation Date/Time: 2018-10-19T10:55:23.331 CMC
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++) (A)	266-28	Streptococcus mutans	2.15

Comments:

N/A

ANEXO E: Constancia de identificación botánica

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "Arándano Azul" proporcionada por los Bachilleres, **KIMBERLY MARÍA BECERRA COLLAZOS** y **JOSÉ EDUARDO TORRES CÉSPEDES**, Tesistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Vaccinium corymbosum* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Ericales
Familia: Ericaceae
Género: *Vaccinium*
Especie: *Vaccinium corymbosum* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 01 Agosto 2022


Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton Wilner Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
C.R. 2719

ANEXO F: Evidencias en fotografías

Figura: 2. Recolección de la especie vegetal



Figura: 3. Preparación de la especie vegetal



Figura 4. Preparación del procesamiento de macerado de la muestra



Figura 5. Evaporación del solvente del macerado



Figura 6. Preparación del extracto a diferentes concentraciones



Figura 7. Inicio del proceso microbiológico: activación de la cepa



Figura 8. Aplicación de los extractos en los cultivos

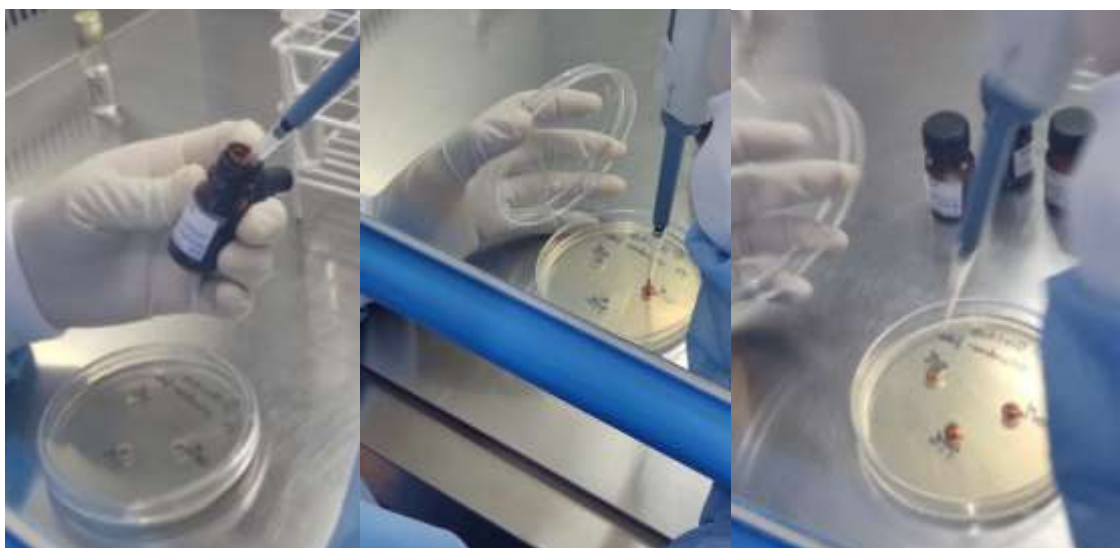


Figura 9. Incubación de placas en medio anaeróbico



Figura 10. Lectura de los halos de inhibición

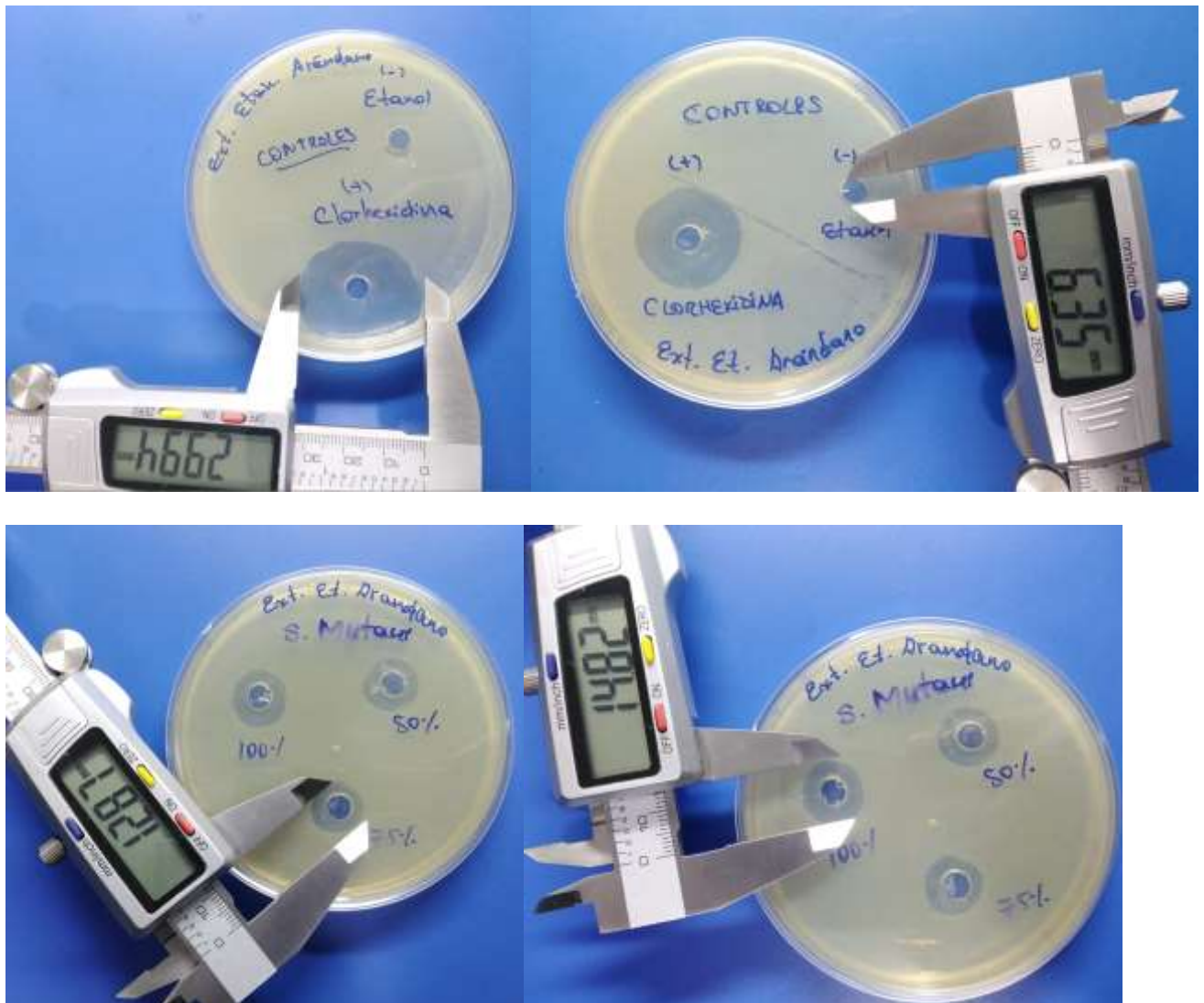




Figura: 11. Pruebas de solubilidad



