



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

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE MASHUA NEGRA (*Tropaeolum  
tuberosum* Ruiz & Pavon) SOBRE CEPAS DE *Escherichia coli*  
ATCC 25922**

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

**AUTORES**

**CHAPARRO QUENTA, YESICA  
CAMA ARIAS, DIEGO ALEXANDER**

**ASESOR**

**Mg. BRAVO ARAUJO, GLORIA TULA**

**Lima – Perú**

**2024**

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Cama Arias Diego Alexander, con DNI 7653379 en mi condición de autor(a) de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título “Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcoholico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922”, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, 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.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 19% 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.

Lima, 18 de Enero, 2024



---

Diego Alexander Cama Arias  
Autor



---

Mg. Gloria Tula Bravo Araujo  
Asesor(a)

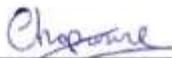
## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Chaparro Quenta ,Yesica, con DNI 45899400 en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título "Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922", **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, 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.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de 19% 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.

Lima, 18 de Enero, 2024



---

Yesica Chaparro Quenta  
Autor



---

Mg. Gloria Tula Bravo Araujo  
Asesor(a)

## CHAPARRO QUENTA, YESICA CAMA ARIAS, DIEGO ALEXANDER

### INFORME DE ORIGINALIDAD



### FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>6%</b>
<b>2</b>	<b>repositorio.uma.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>5%</b>
<b>3</b>	<b>Submitted to Universidad Maria Auxiliadora SAC</b> Trabajo del estudiante	<b>3%</b>
<b>4</b>	<b>repositorio.uap.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>2%</b>
<b>5</b>	<b>uni-contestado-site.s3.amazonaws.com</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>6</b>	<b>repositorio.unap.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>7</b>	<b>repositorio.upla.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>
<b>8</b>	<b>intra.uigv.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1%</b>

## **DEDICATORIA**

A Dios, por no dejarme caer, por darme las fuerzas para continuar, por ayudarme a nunca perder la fe.

A mis padres, por el apoyo constante, ejemplo de vida y enseñarme a que, si en algún momento me derrumbo debo levantarme y seguir adelante.

Chaparro Quenta, Yesica

A Dios, por mantenerme sano, darme la sabiduría para sobrellevar los momentos difíciles que se presentan y por siempre estar a mi lado.

A mis padres, por su cariño, apoyo incondicional en todo momento y haber depositado toda su confianza en cada reto que se me presentó.

Cama Arias, Diego Alexander

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad María Auxiliadora, por brindarnos bases sólidas y todos los conocimientos necesarios para el desenvolvimiento en nuestra vida profesional.

A la Mg. Bravo Araujo, Gloria Tula, quién nos guió y orientó en la presente investigación, así como por sus sabios consejos, los cuales nos ayudaron a desarrollarnos en el ámbito personal y profesional.

A cada una de las personas que de una u otra forma participaron para la realización de la presente investigación, ya que sin su apoyo o respaldo no se habría llevado a cabo la culminación del estudio.

A todos y cada uno, gracias de corazón

Chaparro Quenta, Yesica  
Cama Arias, Diego Alexander

# ÍNDICE GENERAL

<b>Páginas</b>	
<b>RESUMEN</b>	<b>8</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>9</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>10</b>
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>17</b>
II.1	Enfoque y diseño de la investigación 17
II.2	Población, muestra y muestreo 17
II.3	Variables de la investigación 18
II.4	Técnicas e instrumentos para la recolección de datos 18
II.5	Plan metodológico para la recolección de datos 19
II.6	Procesamiento del análisis estadístico 23
II.7	Aspectos éticos 23
<b>III. RESULTADOS</b>	<b>24</b>
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	<b>34</b>
IV.1	Discusión de resultados 34

IV.2	Conclusiones	36
IV.3	Recomendaciones	37

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS** 38

**ANEXOS** 45

ANEXO A: Matriz de consistencia 46

ANEXO B: Operacionalización de las variables 47

ANEXO C: Instrumentos de recolección de datos 48

ANEXO D: Ficha taxonómica de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon

(Mashua negra) 51

ANEXO E: Constancia de elaboración del extracto etanólico, y

marcha fitoquímica 52

ANEXO F: Constancia del análisis microbiológico 53

ANEXO G: Certificado de *Escherichia coli* ATCC 25922 54

ANEXO H: Evidencia fotográfica 55 **ÍNDICE DE TABLAS**

**Páginas**

TABLA 1. Solubilidad del extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon)	24
TABLA 2. Presencia de metabolitos secundarios en extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon)	25

TABLA 3. Halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon) a diferentes concentraciones frente la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	26
TABLA 4. Prueba de Normalidad de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon) al 25%, 50% y 75%, frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	28
TABLA 5. Prueba de Homogeneidad de varianzas de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon) al 25%, 50% y 75%, frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	29
TABLA 6. Estadísticos descriptivos de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon) frente la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	30
TABLA 7. Prueba de ANOVA de los halos de inhibición obtenidos sobre el crecimiento de la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	31
TABLA 8. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición obtenidos sobre el crecimiento de la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	32
TABLA 9. Prueba de subconjuntos de Turkey para <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Páginas

FIGURA 1. Comparación del promedio de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) a diferentes concentraciones sobre el crecimiento de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 27 **RESUMEN**

**Objetivo:** Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Método:** Se preparó un extracto hidroalcohólico con los tubérculos de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) y se realizaron las pruebas de solubilidad, tamizaje fitoquímico y evaluación de la actividad antibacteriana a través del método de difusión en disco, para lo cual se trabajó a las concentraciones de 25%, 50% y 75% frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, empleando Amoxicilina como control positivo.

**Resultado:** El extracto hidroalcohólico de Mashua negra presentó actividad antibacteriana frente *Escherichia coli* ATCC 25922, revelando que a la concentración de 75%, se formó un halo de inhibición de 13 mm, valor cercano al de la amoxicilina que fue de 16,4 mm, que al ser comparado con los parámetros de la escala de Duraffourd indicó que la cepa bacteriana posee una mayor sensibilidad frente a este antibiótico. El tamizaje fitoquímico identificó alcaloides, flavonoides y antocianinas.

**Conclusiones:** El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) presenta actividad antibacteriana frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Palabras claves:** *Tropaeolum tuberosum*, extracto hidroalcohólico, actividad antibacteriana; *Escherichia coli*.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the in vitro antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of black Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) against *Escherichia coli* ATCC 25922.

**Methods:** A hydroalcoholic extract was prepared with the tubers of black Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) and solubility tests, phytochemical screening and evaluation of antibacterial activity were performed through the disc diffusion method, for which we worked at concentrations of 25%, 50% and 75% against *Escherichia coli* ATCC 25922, using Amoxicillin as a positive control.

**Result:** The hydroalcoholic extract of black Mashua showed antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922, revealing that at a concentration of 75%, an inhibition halo of 13 mm was formed, a value close to that of amoxicillin which was 16.4 mm, which when compared with the parameters of the Duraffourd scale, indicated that the bacterial strain has a greater sensitivity to this antibiotic. Phytochemical screening identified alkaloids, flavonoids, and anthocyanins.

**Conclusions:** The hydroalcoholic extract of black Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) presents antibacterial activity against the *Escherichia coli* ATCC 25922 strain.

**Key words:** *Tropaeolum tuberosum*, hydroalcoholic extract, antibacterial activity, *Escherichia coli*.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones bacterianas, siempre han representado un importante problema salud para el hombre, puesto que son una de las causas más importantes de muertes. La terapéutica de las enfermedades causadas por estos microorganismos encontró; con el advenimiento de los antibióticos, un avance notable en la historia de la humanidad, sin embargo, deben ser utilizados adecuadamente con la finalidad de poder evitar que se produzca la resistencia bacteriana, el cual es un fenómeno natural, pero el uso inadecuado de estos productos acelera dicho proceso<sup>1</sup>. Lamentablemente en los últimos años se ha apreciado un notable incremento de infecciones causadas por bacterias resistentes, que únicamente se apreciaban en centros hospitalarios; por lo que se denominan infecciones intrahospitalarias, pero hoy en día no solo es frecuente en los diferentes profesionales de salud que están expuestos, con mayor riesgo, sino también en la población general. Esta situación es alarmante, ya que la gravedad del problema se irradia a nivel mundial, existiendo un mayor incremento de casos en países subdesarrollados debido a la poca inversión en el sector salud, diagnósticos erróneos, imprecisos o tratamientos inadecuados, entre otros, como la carencia económica y de conocimiento por parte de la población hace que recurra a la automedicación, ya que se ve imposibilita a acudir a una atención médica<sup>2</sup>.

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), son producidas por el consumo de alimentos y agua contaminada con diferentes microorganismos o sustancias tóxicas que producen, donde los cuadros diarreicos u otros síntomas gastrointestinales son sus principales manifestaciones clínicas. La Organización Mundial de la Salud (OMS) refiere que su incidencia es de 1500 millones de casos, de los cuales 3 millones de niños menores de 5 años mueren al año<sup>3</sup>, estas enfermedades suelen ser originadas en un 60% por bacterias tales como *Salmonella spp*, *Campylobacter spp* y *Escherichia coli*, siendo esta última la que presenta altos porcentajes de resistencia a diversos antibióticos, lo que lleva grandes complicaciones en el tratamiento<sup>4</sup>. Estudios en España en la década de los 80 del siglo XX reportó que las cepas de *E. coli* eran sensible a las cefalosporinas y fluoroquinolonas; sin embargo, actualmente es resistente en un

13% frente a las cefalosporinas y un 34% frente a las fluoroquinolonas<sup>5, 6</sup>. En México se determinó que más del 60% de aislamientos de *E. coli* fueron resistentes a ciprofloxacino y el 82% a la ampicilina, siendo una de las causas el nivel elevado de consumo de antibióticos en más del 70% de los hospitales cuyo tratamiento frecuente es con cefalosporinas<sup>7,8</sup>. Esta realidad es preocupante, no solo en el campo de la salud, sino en el económico también, investigaciones como la del Banco Mundial indican que la resistencia a los antimicrobianos incrementaría la pobreza y de no controlarse, pueda perjudicar sobre todo a los países más pobres, dejando en claro el por qué es necesario regular los antimicrobianos e incluso la búsqueda de nuevos fármacos<sup>9</sup>. La OMS se ha manifestado ante esta problemática, anunciando que existe una gran brecha en el descubrimiento de nuevos tratamientos antibacterianos, lo que plantea un gran reto para superar la progresiva resistencia bacteriana frente a los fármacos existentes y nos deja a todos cada vez más vulnerable a las infecciones bacterianas; situación que se agudizó con la pandemia del COVID-19, pues se retrasaron ensayos clínicos y se desvió la atención, por lo que urge promover investigaciones en búsqueda de fármacos más efectivos y eficaces<sup>10</sup>.

En el Perú los casos de ETA son frecuentes, debido a que únicamente el 38% de los hogares tienen agua libre de patógenos entre ellos la *Escherichia coli*. Asimismo, entre los años 2014 al 2018 se reportaron; a través del Sistema SIEpiBROTOS del Centro Nacional y control de enfermedades del MINSA, 47 brotes anuales, lo cual afectó a más de 6 mil personas, 1300 fueron hospitalizados y 29 fallecieron en todo el país<sup>11,12</sup>. Dentro de los departamentos más afectados se encuentran Lima con un 22%, Cusco con un 11%, Cajamarca con el 8.5% y en la Libertad, Puno y Tacna solo se reportó un 0.4% de brotes. Cabe mencionar que desde el 2014 se implementó una Guía Técnica para la Investigación y Control de brotes de ETA, siendo de suma importancia ya que facilita la identificación e implementación de acciones de control con la finalidad de disminuir el riesgo que representa a nivel nacional. Además, se detectó que el agente causal hasta el 2019 fue en un 9% la *Escherichia coli* y *Salmonella spp*, y en el 59% de los casos no se determinó la causa<sup>11,13</sup>. Por esta razón es de interés la realización de investigaciones científicas que aporten conocimiento sobre las propiedades de los diversos recursos vegetales de las diferentes zonas geográficas de nuestro país, como es el caso de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz &

Pavon (Mashua negra) a quien se le confiere propiedades nutritivas, cicatrizantes, antiinflamatorios, entre otras; no obstante, es escasa la información a nivel nacional sobre su propiedad antimicrobiana, únicamente se tiene información de este recurso proveniente de Huancayo el cual no demostró actividad antibacteriana, sin embargo, considerando que el suelo y el clima influyen significativamente en las propiedades de la especies vegetales es importante determinar si el recurso en estudio procedente de la localidad de Zepita del departamento de Puno presenta o no la actividad antimicrobiana <sup>14,15</sup>.

Por lo mencionado, se planteó como pregunta general:

¿Presenta actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922?

Como preguntas específicas:

-¿A qué concentración el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) presenta mayor actividad antimicrobiana frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922?

-¿Cuál es la susceptibilidad antibacteriana de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon), a concentraciones de 25%, 50% y 75% , comparado con la amoxicilina?

-¿Cuáles son los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) responsables de la actividad antimicrobiana?

La actividad de un agente antibacteriano está definida por su espectro antimicrobiano, dicho de otra manera, es el conjunto de bacterias patógenos que se ven afectados por las concentraciones de un fármaco o antibiótico los cuales puede ser obtenido de forma natural o biosintética, dicha actividad presenta dos tipos de acciones, el de matar o inhibir la multiplicación bacteriana<sup>16,17</sup>.

El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) es una solución obtenida por la técnica de maceración, haciendo uso de un solvente como el etanol a un determinado porcentaje, para solubilizar los componentes presentes en la muestra estudiada<sup>18</sup>. Este recurso natural es una especie herbácea que crece en los Andes, su valor nutricional es alto, contiene todos los aminoácidos esenciales, compuestos fenólicos y antocianinas por lo que presenta actividad antioxidante, además de otros compuestos fitoquímicos que les confiere resistencia a insectos, hongos, bacterias y otros microorganismos. los cuales pueden tener aplicación en la industria alimentaria y farmacéutica <sup>15,19, 20.</sup>

Entre los antecedentes a nivel internacional tenemos:

**Chica A., et al (2019)** en su estudio presento como objetivo “determinar la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico del tubérculo *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon en sus tres variedades (rosada, amarilla y negra) frente a *E. coli*, *S. aureus* y *Cándida albicans*”. Para lo cual realizaron dos ensayos experimentales, el primero empleando un volumen de 10 µl del extracto para cada variedad dando como resultado actividad antimicrobiana solo en la variedad negra frente a *E. coli* e inhibición limitada sobre *S. aureus*. En el segundo ensayo se utilizaron volúmenes de 20 y 40 µl, confirmando los resultados iniciales. Concluyendo que únicamente *Tropaeolum tuberosum*, variedad negra presenta actividad antimicrobiana<sup>15</sup>.

**Diaz L., et al (2019)** buscaron determinar la capacidad antimicrobiana de los extractos acuosos y etanólicos de la parte aérea de *Tropaeolum tuberosum* (mashua)”. Según sus resultados los extractos no ejercieron inhibición alguna frente a los microorganismos en estudio, los cuales fueron *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* y *C. albicans*. Concluyendo que ambos extractos de *Tropaeolum tuberosum* (mashua) no presenta actividad antimicrobiana<sup>19</sup>.

**Mejía F., et al (2018)** se plantearon dentro de sus objetivos "determinar la capacidad antimicrobiana del extracto etanólico de los tubérculos *Tropaeolum tuberosum* y *Ullucus tuberosus* frente a *E. coli*, *Lactobacillus fermentum* y *Cándida utilis*, reportando que *Tropaeolum tuberosum* presento únicamente un

efecto bacteriostático sobre *C. utilis*, mientras que *Ullucus tuberosus* tuvo un efecto sobre *E. coli* <sup>20</sup>. Concluyendo que *Tropaeolum tuberosum* (mashua) presenta actividad antimicrobiana únicamente sobre *C. utilis* <sup>20</sup>.

A nivel nacional, existen escasas publicaciones científicas relacionadas a la actividad antibacteriana de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon), es por ello que se están considerando algunas investigaciones de recursos vegetales que pertenecen al mismo género del recurso vegetal en estudio.

**Macha F., et al. (2021)** buscaron determinar la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* RUÍZ & PAV (mashua negra) procedente de Huancayo sobre el crecimiento de 5 cultivos de *E. coli* aislada de orina y heces de pacientes, mediante la técnica de Kirby-Bauer. Sus resultados evidenciaron, que al 50% se formaron halos de inhibición de 6,33 mm y al 70% halos de 6,55 mm frente a *E. coli* aislado de orina. Así mismo para los cultivos obtenidos de heces, al 50% se presentó halos de inhibición frente a 2 cultivos (7,11 y 7,22 mm) y dos al 70% (7,99 y 7,55 mm); para la concentración del extracto al 90%. no se obtuvo inhibición alguna. Los controles positivos ciprofloxacina revelaron diámetros entre 10,99 y 34,66 mm y sulfametoxazol/trimetropim de 20,92 a 33,93 mm. Concluyendo que el extracto en estudio no presenta efecto en el crecimiento bacteriano de *E. coli*<sup>18</sup>.

**Tenorio A. et al. (2017)** se plantearon como objetivo evaluar la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) a tres concentraciones frente a cinco cepas de *Escherichia coli* aislada de pacientes con infecciones del tracto urinario. Sus resultados revelaron que el extracto obtenido a concentraciones de 50%, 40% y 30% produjo halos de inhibición promedios de 26, 23 y 20 mm respectivamente. Concluyendo que el extracto etanólico de *Tropaeolum majus* presenta efecto inhibitorio sobre *E. coli*<sup>21</sup>.

**Candia C. (2016)** presentó como objetivo evaluar el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto de *Tropaeolum tuberosum* procedente de Puno, a cuatro concentraciones frente a cepas clínicas y ATCC de *Escherichia coli* y

*Pseudomonas aeruginosa*”, así como identificar sus principales metabolitos. Sus resultados evidenciaron que los extractos a la concentración de 50 y 75 g/mL tuvieron actividad antibacteriana frente a *E. coli* ATCC 25922 mostrando halos de 22 y 23 mm y con *P. aeruginosa* ATCC 27853, en ambas concentraciones, halos de 16 mm, respectivamente. Respecto a las cepas clínicas solo se presentó efecto en *P. aeruginosa*, formándose halos de 9 y 13 mm. Las concentraciones de 10 y 25 g/mL no presentó actividad. Los controles con gentamicina dejaron ver halos entre 18 y 25 mm. Asimismo, se reveló que, los principales metabolitos son flavonoides, taninos, esteroides y alcaloides. Concluyendo que el extracto acuoso de *Tropaeolum tuberosum* presenta efecto antibacteriano frente a las cepas ATCC<sup>22</sup>.

Por lo expuesto nuestro estudio presenta una justificación teórica y social, ya que al comprobar la actividad antimicrobiana que se atribuye empíricamente a Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) aporta un valioso conocimiento científico que valida su uso y genera bases sólidas para investigaciones futuras que estén direccionadas a elaborar fitofármacos antibacterianos, además de brindar información sobre los diferentes metabolitos secundarios que posee y que podrían ser responsables de su efecto antimicrobiano; todo esto ofrece una nueva alternativa terapéutica que permite combatir algunas enfermedades infecciosas, lo que va en beneficio de la población sobre todo de escasos recursos; así mismo posee una justificación económica, ya que fomenta su cultivo, para ser comercializada, a mayor escala, generando un crecimiento económico en el sector agrícola.

La presente investigación se planteó como por objetivo general:  
Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) frente a la cepa *Escherichia coli*

ATCC 25922

Como objetivos específicos:

- Determinar a qué concentración el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) presenta mayor actividad antimicrobiana frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

-Determinar la susceptibilidad antibacteriana de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon), a concentraciones de 25%, 50% y 75% , comparado con la amoxicilina.

-Determinar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon), responsables de la actividad antimicrobiana.

Como hipótesis general tenemos:

El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) presenta actividad antimicrobiana *in vitro* frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

Como hipótesis específicas:

- El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) a mayor concentración presenta mejor actividad antimicrobiana frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

- La cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, es más susceptible al extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon), a concentraciones de 25%, 50% y 75%, comparado con la amoxicilina. -El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) posee metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### II.1. Enfoque y diseño de la investigación

**Enfoque:** Cuantitativo ya que los resultados se basan en una secuencia de procedimientos que permite obtener datos numéricos con la finalidad de determinar la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) frente a la cepa *E. coli* ATCC 25922.

**Experimental:** Ya que se realizó la manipulación de la variable independiente bajo condiciones muy controladas con la finalidad de poder establecer la causa que ocasiona el acontecimiento, estableciendo una posible causa y efecto sobre la variable dependiente<sup>23-26</sup>.

**Explicativo:** buscó la razón de los hechos mediante la relación causa-efecto, relacionando las concentraciones del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922<sup>23-26</sup>.

**Transversal:** Ya que la recolección de la información / datos se dio únicamente en un momento dado<sup>23-26</sup>.

## **II.2. Población, muestra y muestreo**

La población de estudio estuvo conformada por el recurso Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) procedente de la localidad de Zepita, del departamento de Puno, recolectado a una altitud de 3831 m.s.n.m.

La muestra consistió en 1 kilo de los tubérculos de la especie vegetal mencionada y se consideró los siguientes criterios de selección:

Criterios de inclusión: Tubérculos sanos, sin roturas o mal olor, libres de algún defecto producido por envejecimiento.

Criterios de exclusión: Tubérculos que estén infectados por plagas o que procedan de un lugar diferente a la localidad de Zepita - Puno.

La población microbiológica, estuvo conformada por la cepa bacteriana *E. coli* ATCC 25922.

El tipo de muestreo fue “no probabilístico”, debido a que la selección de los tubérculos de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) fue de forma por conveniencia, considerándose los criterios de inclusión y exclusión antes descritos.

## **II.3. Variables de investigación**

**Variable independiente:** Extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon)

Definición conceptual: Solución obtenida de un recurso vegetal mediante la técnica de maceración, haciendo uso de un solvente que permite la solubilización de componentes que se encuentran en la muestra de estudio<sup>26,27</sup>.

Definición operacional: Concentración del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon).

**Variable dependiente:** Actividad antimicrobiana

Definición conceptual: Capacidad de una sustancia obtenida de forma natural o biosintética para interferir en el crecimiento y posterior propagación de los microorganismos<sup>19,26-28</sup>

Definición operacional: Susceptibilidad que presenta una cepa bacteriana frente a la acción inhibitoria del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon), la cual se obtiene por medición del diámetro de los halos de inhibición.

#### **II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos**

La técnica de recolección de datos estuvo basada en la observación. El instrumento fue una ficha de recolección de datos donde se registró cada resultado obtenido al realizar la prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y finalmente la actividad antibacteriana<sup>26</sup> del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) (Anexo C).

#### **II.5. Plan metodológico para la recolección de datos**

El procedimiento para la realización del estudio consistió en:

##### **a) Obtención y Selección de la Muestra:**

El recurso vegetal Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) fue obtenido de la localidad de Zepita, en la ciudad de Puno, en el periodo del mes de diciembre del 2022, una vez recogidos, se procedió a seleccionar un kilo de tubérculos en buenas condiciones, posteriormente se lavó con agua destilada eliminando las partículas de tierra<sup>29</sup>.

**b) Identificación taxonómica de la Muestra:**

Se realizó la taxonomía del recurso en estudio en las instalaciones de la Universidad Nacional San Agustín de Arequipa, obteniendo la constancia que acredita que la planta pertenece a la especie *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon (Anexo D).

**c) Obtención del extracto hidroalcohólico:**

Se realizó en las instalaciones de Industrias Médicas y Farmacéuticas SRL. (Anexo E). La muestra fue situada en un recipiente de acero inoxidable y llevada a una estufa a 37°C por un tiempo de 48 horas, luego, el producto fue triturado en un molino y se tamizó obteniendo partículas de tamaño homogéneo, para luego depositarlo en un frasco de vidrio ámbar, el cual contenía alcohol al 70%, dejándolo reposar durante 10 días, en un lugar oscuro y fresco. El producto obtenido fue filtrado y llevado a una estufa a temperatura de 40°C, para obtener un extracto seco; a partir del cual se prepararon las concentraciones de 25%, 50% y 75%, con el solvente que presentó mejor solubilidad y conservados en frascos color ámbar.

**d) Prueba de solubilidad:**

Se procedió a determinar la solubilidad empleando los siguientes solventes: n-Hexano, Cloroformo, éter de petróleo, agua destilada, metanol y etanol, para lo cual en diferentes tubos de ensayo se colocó 5 mg del extracto seco y agredió 1ml de cada solvente<sup>26, 30-32</sup>.

**e) Marcha Fitoquímica:**

Se realizó en las instalaciones de Industrias Médicas y Farmacéuticas SRL. (Anexo E). Para la identificación de los principales metabolitos secundarios de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon, se realizaron diferentes ensayos<sup>31,33</sup>.

- Identificación de alcaloides: Se realizó mediante la reacción de Dragendorff, la cual implicó que en un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto y luego se adicionó una gota de reactivo. La formación de un precipitado indica la presencia del metabolito.

- Identificación de flavonoides: Se realizó mediante la reacción de Shinoda, la cual implicó que en un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto y luego se añadió “una pequeña limadura de magnesio y 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado”. La presencia de burbujas y el cambio de color indica la presencia del metabolito.
  
- Identificación de antocianinas: En un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto y se añadió unas gotas de NaOH al 10%, el cambio de color indica la presencia del metabolito.
  
- Identificación de esteroides: Se realizó mediante la reacción de Libermann- Burchard, la cual implicó que en un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto y luego se añadió 3 gotas de anhídrido acético y 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. El cambio de color indica la presencia del metabolito.
  
- Identificación de taninos: Se realizó mediante la prueba de la gelatina y cloruro de sodio, la cual implicó que en un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto y luego se agregó unas gotas de gelatina- cloruro de sodio, en un principio se forma una sustancia con apariencia de nube en la solución, luego de centrifugar se observa la formación de un precipitado de color blanco, indica la presencia del metabolito.
  
- Identificación de fenoles: Se realizó mediante la reacción de cloruro férrico o de hierro ( $\text{FeCl}_3$ ), la cual implicó que en un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto y luego se agregó tres gotas del reactivo, si se observa la aparición de una coloración, indica la presencia del metabolito.
  
- Identificación de saponinas: Se realizó mediante la prueba de la espuma, la cual implicó que en un tubo de ensayo se colocó 1 ml del extracto y luego se agitó por 1 minuto. Si la espuma formada se mantiene por más de un minuto indica la presencia del metabolito.

#### f) Ensayo microbiológico

Se realizó en las instalaciones de la institución INDUSTRIAS MÉDICAS Y FARMACÉUTICAS SRL, bajo la supervisión del Q.F. Wilber Carlos Benito Ichocan (Anexo F). Para medir la actividad antibacteriana se aplicó el método según Kirby Bauer de difusión en agar, trabajando con el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) a diferentes concentraciones: 25%, 50% y 75%, enfrentándolo a la cepa estándar American Type Culture Collection (ATCC) de *Escherichia coli* ATCC 25922 (Anexo G) <sup>26,31-35</sup>. Asimismo, se usó como control positivo los discos de sensibilidad del antibiótico de amoxicilina y como control negativo agua estéril.

Para este proceso, se realizaron los siguientes pasos:

- Primero se preparó el Agar Mueller Hinton, se consideró que el pH se encuentre entre 7.2 a 7.4. Luego se procedió a verter en las placas Petri 15 ml del medio de cultivo; previamente esterilizadas, dando un fondo uniforme de un espesor aproximado de 4mm, dejándose reposar en un área plana a temperatura ambiente hasta que se enfrió, luego fue llevado a refrigeración a 5 – 8°C para que pueda conservarse y posteriormente usarlo <sup>31-37</sup>.
- Para preparar los discos de sensibilidad, consistió en impregnar discos de papel filtro de diámetro de 6 mm con las tres concentraciones (25%,50% y 75%) del extracto hidroalcohólico, los cuales posteriormente fueron colocados sobre la superficie agar sembrado con la cepa bacteriana en estudio. <sup>31-37</sup>.
- Preparación del inóculo, la cepa bacteriana *E. coli* ATCC25922 fue reconstituida cumpliendo las indicaciones del fabricante y luego fueron sembradas en agar Mueller Hinton, siendo incubadas a 37°C por un tiempo de 24 - 48 horas, consiguiendo favorecer el crecimiento y formación de colonias bacterianas. Utilizando un asa de kohle que tomó de 4 - 5 colonias y se transfirieron a un tubo de ensayo, el cual, previamente contenía 5 ml de caldo nutritivo, luego se homogenizó

suavemente y se llevó a incubadora por aproximadamente 2-3 horas hasta alcanzar una turbidez deseada la cual es equivalente a  $1 \times 10^8$  UFC/ml (0.5 de la escala de Mc Farland )<sup>31-37</sup>.

- **Inoculación de las Placas**

Luego de obtener la turbidez de la cepa bacteriana, en un periodo no superior a los 15 min, con ayuda de un hisopo que fue embebido con la suspensión bacteriana y rotándolo con suave presión sobre las paredes interiores del tubo logrando eliminar los excesos de la muestra, se procedió a sembrar por agotamiento en toda la superficie de la placa petri que previamente contenía el Agar Mueller Hinton, luego se llevó a estufa durante unos 5 min, con la finalidad de conseguir que el exceso de humedad de la superficie se absorba antes de aplicar los discos impregnarlos con cada concentración del extracto <sup>31-37</sup>.

- **Aplicación de los discos a las placas inoculadas**

Fue necesario que, con la ayuda de una pinza estéril, los discos estériles de papel filtro embebidos con 20ul de cada concentración del extracto, se colocaron sobre la superficie del agar y se presionó para asegurar el contacto firme. Estos se distribuyeron en forma equidistante con al menos

25 mm de distancia entre uno y otro <sup>31- 37</sup>. Además, se aplicaron discos de amoxicilina (control positivo) y de agua estéril (control negativo o blanco).

El ensayo se realizó por triplicado.

- **Incubación de las placas y lectura de los halos de inhibición.**

Después de aproximadamente 5 minutos de realizado el paso anterior, las placas fueron llevadas a incubación, por un periodo de 24 horas, transcurrido ese tiempo, se observó la formación de halos de inhibición, los cuales se midieron en milímetros utilizando un vernier calibrado. Los tamaños de los halos fueron comparados con la escala de Duraffourd y Lapraz (1983), pudiendo determinar el grado de sensibilidad bacteriana

26,31-38.

## II.6. Procesamiento del análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos obtenidos del presente estudio, se realizaron mediante “Statistical Package for the Social Sciences” (SPSS) versión 23; el cual, permitió obtener la media y el promedio de los valores de cada grupo de estudio, Además se empleó la prueba de “Analysis Of Variance (ANOVA)” para determinar si existe diferencia significativa entre los grupos de estudio <sup>26,39-40</sup>.

## II.7. Aspectos éticos

Para desarrollar la presente investigación, se consideró el cumplimiento de las recomendaciones y directrices detalladas en el “Manual de las Buenas Prácticas de Laboratorio”, el cual consiste en prevenir riesgos que podría sufrir el investigador al estar expuesto a agentes de distinta naturaleza, para efectos del estudio se contempló el contar con la vestimenta e indumentaria necesaria para el adecuado manejo y el control de los reactivos y la cepa bacteriana *Escherichia coli* ATCC25922; además una vez culminado los procedimientos en el laboratorio se eliminaron todos los residuos cumpliendo los protocolos de seguridad al medio ambiente<sup>41,42</sup>.

## III. RESULTADOS PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### III.1 Prueba de solubilidad:

Tabla N°1:

**Solubilidad del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon)**

Solvente	Solubilidad
Hexano	-
Cloroformo	-
Éter de petróleo	-
Agua destilada	++

Metano	++
Etanol	+++

**Leyenda:**

- (-) No soluble o insoluble
- (+) Poco soluble
- (++) Mediano o moderadamente soluble
- (+++) Completamente soluble

En la tabla N°1 se aprecia los diversos solventes empleados, para determinar la solubilidad del extracto; los cuales presentan diferentes polaridades. Se evidencia una completa solubilidad (+++) con el etanol, seguido del metanol y agua destilada que fue de moderada o mediana (++) , esto debido a los grupos funcionales hidrofílicos que presentan; así mismo se observa nula solubilidad o insoluble (-) para éter de petróleo, cloroformo y hexano.

**III.2 Marcha fitoquímica**

**Tabla N° 2:**

**Presencia de metabolitos secundarios en extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon)**

Metabolito secundario	Ensayo	Resultado
Alcaloides	Reactivo de Dragendorff	+++
Flavonoides	Reacción de Shinoda	+++
Antocianinas	Hidróxido de sodio al 10%	+++
Esteroles	Rvo. Libermann-Burchard	++
Taninos	Gelatina-sal	++

Fenoles	Tricloruro de hierro	+
Saponinas	Prueba de la espuma	-

**Leyenda:**

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

En la tabla N° 2, se muestra los diferentes ensayos empleados para identificar los metabolitos secundarios, evidenciándose una notable presencia (+++) de alcaloides, flavonoides y antocianinas; presencia moderada (++) de esteroides, taninos y fenoles, compuestos fitoquímicos que le confiere a las especies vegetales resistencia a insectos, hongos, bacterias y otros microorganismos; asimismo ausencia de saponinas.

**III.3 Evaluación de la Actividad antibacteriana *in vitro*.**

**Tabla N°3:**

**Halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) a diferentes concentraciones sobre el crecimiento de la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922**

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	No. Repet	Agua destilada estéril (control negativo)	Concentración del Extracto			Amoxicilina (Control positivo)
			25%	50%	75%	
Diámetro de halos de inhibición	1	6,01	6,18	7,10	12,50	16,96
	2	6,04	6,58	6,92	13,50	15,82

	<b>3</b>	6,07	6,98	7,78	13,10	16,62
	<b>Prom</b>	<b>6,04</b>	<b>6,58</b>	<b>7,26</b>	<b>13,03</b>	<b>16,46</b>

**Leyenda:**

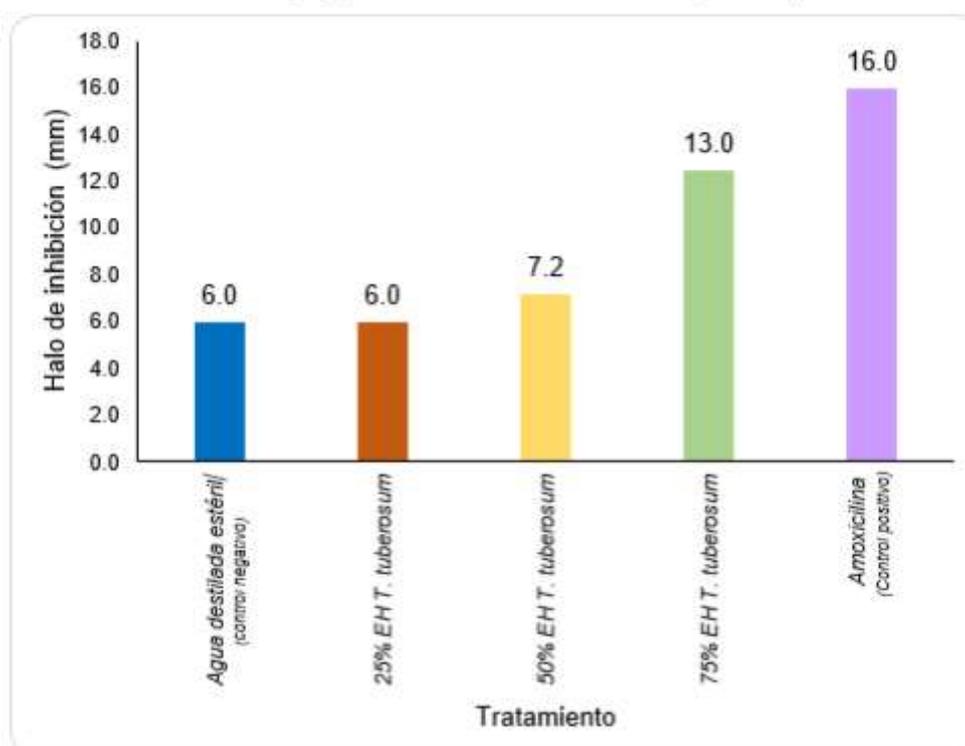
**Escala de Duraffourd y Lapraz (1983)**

(-) Nula: Diámetro (< 8 mm)

(+) Sensible bajo: Diámetro (9 - 14 mm)

(++) Muy sensible: Diámetro (15 - 19 mm)

(+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)



**Figura N° 1:** Comparación del promedio de los halos de inhibición (mm) del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) a diferentes concentraciones sobre el crecimiento de la *E. coli* ATCC 25922

En la Tabla N° 3 y Figura N° 1 se aprecian los resultados promedio de los halos de inhibición (mm), el cual representa el efecto antimicrobiano del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) frente al microorganismo en estudio. Según la escala de Duraffourd, la cepa de *E. coli* ATCC 25922, tanto para el agua destilada estéril (control negativo) como para las concentración del 25% y 50% muestran valores < 8 mm lo que indica que no existe actividad (nula), a diferencia de la concentración de 75% , donde se reveló efecto

antibacteriano; aunque el microorganismo en estudio presentó baja sensibilidad con 13 mm aproximadamente, siendo un diámetro inferior a la amoxicilina (control positivo), cuyo valor promedio fue de 16 mm donde *E. coli* ATCC 25922 resultó ser muy sensible.

#### III.4 Prueba de Normalidad y homogeneidad de varianza de la Actividad antibacteriana *in vitro*.

Tabla 4

Prueba de Normalidad de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) al 25%, 50% y 75%, frente a la cepa de *E. coli* ATCC 25922

Pruebas de normalidad						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wil k		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Blanco	,175	3	.	1,000	3	1,000
25%	,289	3	.	,928	3	,480
50%	,292	3	.	,923	3	,463
75%	,219	3	.	,987	3	,780
Amoxicilina	,280	3	.	,938	3	,520
a. Corrección de significación de Lilliefors						

En la tabla 4 se aplicó la prueba de normalidad para determinar si el conjunto de datos proviene de una distribución normal y debido que se tiene menos de 50 observaciones, se consideró utilizar la prueba de Shapiro-Wilk. Así mismo, se aprecia que el valor p se encuentra por encima de  $\alpha = 0.05$ , esto demuestra que los datos provienen de una distribución normal.

**Tabla 5**

**Prueba de Homogeneidad de varianzas de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) al 25%, 50% y 75%, frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC**

**25922**

<b>Prueba de homogeneidad de varianzas</b>					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Escherichia coli	Se basa en la mediana	1,359	4	10	,315

En la tabla 5 para determinar si “las varianzas de cada tratamiento aplicado son iguales o diferentes estadísticamente”. Se aplicó la prueba estadística de Levene donde se observa que el valor p es mayor a 0.05, concluyendo que las varianzas de los tratamientos aplicados son homogéneas.

Por lo tanto, “al cumplir los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza aplicaremos pruebas paramétricas, en este caso la prueba de ANOVA”.

### **III.5 Contrastación de las hipótesis**

Para el desarrollo del experimento *in vitro* se evaluó la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) a concentraciones de 25%, 50% y 75%, frente a *E. coli* ATCC 25922; además se emplearon controles de calidad con la finalidad de evaluar el desempeño del trabajo, donde el agua destilada estéril fue el blanco y la amoxicilina el control positivo; cada ensayo se realizó por triplicado y los datos obtenidos fueron interpretados mediante la escala de Duraffourd y Lapraz.

Para contrastar las hipótesis planteadas por los investigadores del presente estudio (H1), se utilizaron pruebas estadísticas paramétricas.

### III.5.1 Contrastación de la hipótesis general

- H0: El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) no presenta actividad antimicrobiana frente a la cepa *E. coli* ATCC 25922.
- H1: El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) presenta actividad antimicrobiana frente a la cepa *E. coli* ATCC 25922.

**Tabla N° 6**

**Estadísticos descriptivos de la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) frente a la cepa de *E. coli* ATCC 25922**

Descriptivos								
Tratamiento	N	Media	Desviación estándar	Desv. Error	95% de intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
<b>Blanco</b>	3	6,0400	0,0300	0,0173	5,9655	6,1145	6,01	6,07
<b>Concentración 25%</b>	3	6,5800	0,1609	0,0929	6,1802	6,9798	6,18	6,98
<b>Concentración 50%</b>	3	7,2667	0,2082	0,1202	6,7496	7,7838	7,10	7,78
<b>Concentración 75%</b>	3	13,0333	0,5033	0,2906	11,7830	14,2837	12,50	13,50
<b>Amoxicilina</b>	3	16,4667	0,1858	0,1073	16,0050	16,9283	16,26	16,62

En la tabla 6 se registran la media de los halos de inhibición obtenidos (mm) correspondientes a las tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*T. tuberosum*), un control negativo (Blanco) y control positivo (Amoxicilina) sobre la cepa *E. coli* ATCC 25922, con una confiabilidad del 95%, en donde se visualiza que el blanco no presenta actividad microbiana, el valor registrado pertenece al diámetro del disco (6.00 mm). Según la escala de Duraffourd y Lapraz, las concentraciones del extracto al 25% y 50% no ejerce efecto inhibitorio sobre el crecimiento del organismo en estudio, con una media de  $6.58 \pm 0.1609$  mm y  $7.27 \pm 0.2082$  mm respectivamente, a diferencia del 75% que muestra actividad ( $13.03 \pm 0.5033$  mm), cercana a la de Amoxicilina ( $16.47 \pm 0.1858$  mm); lo que refleja que *E. coli* ATCC 25922 presenta una baja y muy sensible sensibilidad, respectivamente. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H0) y se acepta la hipótesis alterna (H1), concluyendo que el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) presenta actividad antimicrobiana frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

### III.5.2. Contrastación de hipótesis específicas:

#### Hipótesis específica 1

- H0: El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) a mayor concentración no presenta mejor actividad antimicrobiana frente a la cepa *E. coli* ATCC 25922.
  
- H1: El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) a mayor concentración presenta mejor actividad antimicrobiana frente a la cepa *E. coli* ATCC 25922.

**Tabla 7**

**Prueba de ANOVA de los halos de inhibición obtenidos sobre el crecimiento de la cepa *E. coli* ATCC 25922**

ANOVA					
	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	257,378	4	64,345	898,667	,000
<b>Dentro de grupos</b>	,716	10	,072		
<b>Total</b>	258,094	14			

La prueba ANOVA nos permite verificar si existen diferencias significativas entre las concentraciones aplicadas, comparando la medida de cada uno de ellos. En la tabla N° 7, se visualiza que el valor  $p=0,000$  (sig) es menor a 0.05, por lo que se afirma que existe diferencias significativas; para determinar qué medidas son estadísticamente diferentes se debe aplicar pruebas POST HOC, en este caso se aplicará la prueba de Tukey.

**Tabla N° 8**

**Comparaciones múltiples de los halos de inhibición obtenidos sobre el crecimiento de la cepa *E. coli* ATCC 25922 - Prueba de HSD TUKEY**

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente: <i>E. coli</i> ATCC 25922						
HSD Tukey						
(I) Concentraciones	(J) Concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Blanco	Concentración 25%	-,54000	,21848	,173	-1,2590	,1790
	Concentración 50%	-1,22667*	,21848	,002	-1,9457	-,5076

	Concentración 75%	-6,99333*	,21848	,000	-7,7124	-6,2743
	Amoxicilina	-10,42667*	,21848	,000	-11,1457	-9,7076
Concentración 25%	Blanco	,54000	,21848	,173	-,1790	1,2590
	Concentración 50%	-,68667	,21848	,063	-1,4057	,0324
	Concentración 75%	-6,45333*	,21848	,000	-7,1724	-5,7343
	Amoxicilina	-9,88667*	,21848	,000	-10,6057	-9,1676
	Blanco	1,22667*	,21848	,002	,5076	1,9457
Concentración 50%	Concentración 25%	,68667	,21848	,063	-,0324	1,4057
	Concentración 75%	-5,76667*	,21848	,000	-6,4857	-5,0476
	Amoxicilina	-9,20000*	,21848	,000	-9,9190	-8,4810
Concentración 75%	Blanco	6,99333*	,21848	,000	6,2743	7,7124
	Concentración 25%	6,45333*	,21848	,000	5,7343	7,1724
	Concentración 50%	5,76667*	,21848	,000	5,0476	6,4857
	Amoxicilina	-3,43333*	,21848	,000	-4,1524	-2,7143
Amoxicilina	Blanco	10,42667*	,21848	,000	9,7076	11,1457
	Concentración 25%	9,88667*	,21848	,000	9,1676	10,6057
	Concentración 50%	9,20000*	,21848	,000	8,4810	9,9190
	Concentración 75%	3,43333*	,21848	,000	2,7143	4,1524
* La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05						

La prueba estadística de Tukey permite realizar comparaciones múltiples, así como también la identificación de qué medias son estadísticamente homogéneas.

En la Tabla 8, evidencia que existen diferencias significativas entre las concentraciones de: Blanco - Concentración 50%, Blanco - Concentración 75%, Blanco - Amoxicilina, Concentración 25% - Concentración 75%, Concentración 25% - Amoxicilina, Concentración 50% - Concentración 75%, Concentración 50% - Amoxicilina y Concentración 75% - Amoxicilina, esto se demuestra porque los valores p de Sig. es  $<0,05$ . Por ello se debe aplicar la prueba de subconjuntos de Tukey para identificar las diferencias antes mencionadas.

**Tabla N° 9**

**Prueba de subconjuntos de Tukey para *E. coli* ATCC 25922**

<b>HSD Tukey<sup>a</sup></b>					
<b>Concentraciones</b>	<b>N</b>	<b>Subconjunto para alfa = 0.05</b>			
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>Blanco</b>	3	6,0400			
<b>Concentración 25%</b>	3	6,5800	6,5800		
<b>Concentración 50%</b>	3		7,2667		
<b>Concentración 75%</b>	3			13,0333	
<b>Amoxicilina</b>	3				16,4667
<b>Sig.</b>		,173	,063	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.					

En la tabla N° 9 se observa que todas las medias de las diferentes concentraciones empleadas son distintas, visualizándose que, a mayor concentración del extracto, se ejerce una mayor inhibición.

Por lo tanto, se acepta la H1 y se rechaza la H0, concluyendo que el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) a mayor concentración posee mejor actividad antimicrobiana frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.

## Hipótesis específica 2

- H0: La cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, es menos susceptible al extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon), a concentraciones de 25%, 50% y 75%, comparado con la amoxicilina.
- H1: La cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, es más susceptible al extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon), a concentraciones de 25%, 50% y 75%, comparado con la amoxicilina.

En la Tablas N° 3, se muestra las medias de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente a las diferentes concentraciones del extracto en estudio, los cuales oscilan entre 6,5 mm y 13mm, inferiores al del control positivo (Amoxicilina) el cual fue de 16,4mm. Esto indica que el antibiótico empleado exhibe una mayor zona en la que no se produce crecimiento del microorganismo. Existe una relación directa entre el diámetro del halo y la susceptibilidad de las bacterias, que en general se puede clasificar como baja, media y alta. Por lo tanto, se acepta la H0 y se rechaza la H1, concluyendo que *Escherichia coli* ATCC 25922 es menos susceptible al extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) a las concentraciones 25%, 50% y 75%, comparado con la amoxicilina.

## Hipótesis específica 3

- H0: El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) no posee metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana.
- H1: El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) posee metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana.

La contrastación de esta hipótesis, se hizo mediante la prueba de Marcha Fitoquímica por el Método de Olga Lock, donde la determinación se realizó mediante pruebas de coloración y precipitación cualitativas, dependiendo de los

grupos químicos presentes en el extracto del recurso vegetal, identificándose metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, tal como se muestra en la Tabla N° 2, que indica una notable presencia (+++) de alcaloides, flavonoides y antocianinas; moderada presencia (++) de esteroides, taninos, siendo estos los metabolitos secundarios que estarían relacionados con la actividad antimicrobiana. Por lo tanto, se rechaza la H0 y se acepta la H1, concluyendo que el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) posee metabolitos secundarios responsables de la actividad antimicrobiana.

## IV. DISCUSIÓN

### IV.1 Discusión de resultados

En las últimas décadas, uno de los problemas más alarmantes a nivel mundial, son las infecciones producidas por cepas bacterianas que se agrava cada día por la acelerada velocidad para desarrollar mecanismos de evasión frente a la acción de los fármacos; a diferencia del pausado descubrimiento o producción de nuevas moléculas bioactivas para combatirlas. Esta resistencia generada frente a los antimicrobianos constituye una gran amenaza en salud pública, por ello la necesidad urgente de estudiar nuevas alternativas de antimicrobianos eficaces que nos permita brindar múltiples opciones de tratamientos que protejan tanto al hombre como animales de infecciones o enfermedades que cada día se hacen más difíciles de tratar e incluso pueden convertirse en potencialmente mortales.

Por consiguiente, la presente investigación se planteó como objetivo general evaluar la actividad antimicrobiana *in vitro* del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922, para ello el extracto se preparó a las concentraciones de 25%, 50% y 75%.

Los resultados demostraron que el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) presenta actividad antimicrobiana a la concentración de 75%, sobre *Escherichia coli* ATCC 25922, siendo esta la mayor concentración empleada y que ejerció un efecto inhibitorio con un diámetro de 13

mm; lo que ratifica nuestra hipótesis planteada (H1), traducándose en que, a mayor concentración, mayor es el diámetro de los halos de inhibición; esto debido a que, agrupa una mayor cantidad de compuesto bioactivos, esta información es similar a las investigaciones de **Chica A., et al (2019)** quienes reportaron actividad antibacteriana de *Tropaeolum tuberosum*, variedad negra frente a *Escherichia coli* e incluso a *Staphylococcus aureus*<sup>15</sup>; igualmente **Candia C. (2016)** evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* del extracto acuoso de *T. tuberosum* procedente de Puno frente a dos cepas tipificadas, reportando que a 50 y 75 g/mL se formaron halos de 22 y 23 mm para *E. coli* ATCC 25922 y de 16 mm para *P. aeruginosa* ATCC 27853, respectivamente; pero concentraciones menores como 10 y 25 g/mL, no presentó dicha propiedad<sup>22</sup>. Ambos estudios reflejan que existe una correlación directa entre el diámetro del halo de inhibición y la concentración del extracto. Así mismo, nuestros resultados son apoyados por la investigación de **Tenorio A. et al. (2017)** quienes evalúan la actividad inhibitoria del extracto etanólico de *Tropaeolum majus* (mastuerzo) a tres concentraciones frente a cepas de *Escherichia coli* aislada de pacientes con infecciones del tracto urinario, revelando que al 30%, 40% y 50% se produjeron halos cuyo promedio fueron de 20.11, 23.57 y 26.55 mm respectivamente<sup>21</sup>. Por otro lado nuestros datos se oponen a los reportados por **Diaz L., et al (2019)**<sup>19</sup>, **Mejía F., et al (2018)**<sup>20</sup> y **Macha F., et al. (2021)**<sup>18</sup>, quienes no evidencian actividad alguna de los extractos de *Tropaeolum tuberosum* sobre la especie bacteriana en estudio; esta diferencia marcada se puede deber a diversos factores intrínsecos como, el lugar de procedencia, genotipo del recurso vegetal, luz, temperatura, radiación solar, disponibilidad de agua, condición nutricional del suelo, entre otros, las cuales al no ser los adecuados u óptimos, puede influenciar negativamente en la producción de los compuestos químicos en las especies vegetales<sup>19, 21</sup>

Además, nuestros resultados fueron comparados con los parámetros establecidos en la escala de Duraffourd y Lapraz (1983), la cual confirma el efecto inhibitorio de un extracto y categoriza el grado de sensibilidad de una cepa bacteriana, indicando nula (diámetro inferior a 8 mm); sensible (9 a 14 mm); muy sensible (15 y 19 mm), y sumamente sensible (igual o superior a 20 mm)<sup>26, 35</sup>. Basados en estos valores; nos indica que *Escherichia coli* ATCC 25922, presentó baja sensibilidad a la concentración de 75% (13mm) y nula al 25% y 50% (menor a 8mm), a comparación de la amoxicilina (control positivo), con halo de inhibición

de 16mm. Datos similares fue encontrados en la investigación realizadas por **Candia C. (2016)** quien trabajó con el mismo recurso, cepa y a concentraciones muy parecidas, demostrando que a mayor concentración (50 y 75 g/mL) tuvieron mejor actividad antibacteriana y cercana al antibiótico control (gentamicina) a diferencia de 10 y 25 g/mL que no registró <sup>22</sup>. Igualmente, **Chica A., et al (2019)** <sup>15</sup> quienes trabajaron con volúmenes de 20 y 40ul y **Tenorio A. et al. (2017)** <sup>21</sup> con concentraciones de 30%, 40% y 50%, encontraron resultados similares, aunque ambos no emplearon controles positivos. Los resultados obtenidos respecto al extracto pueden asociarse a factores intrínsecos de la fisiología vegetal, como los antes mencionados, variedad de la cepa bacteriana empleada, y/o factores intrínsecos relacionados con el proceso de extracción, concentraciones empleadas, entre otros<sup>19,21</sup>, lo que nos anima a replantear el estudio, emplear nuevas concentraciones y considerar las variedades de la especie vegetal e incluso la cepa bacteriana. Además, hay que considerar que los antibióticos están diseñados específicamente para atacar y eliminar bacterias, mientras que los extractos vegetales pueden tener una acción más general y no tan específica. La acción que ejerce la amoxicilina es interrumpir la síntesis de la pared bacteriana al inhibir a la enzima transpeptidasa, esta acción impide el entrecruzamiento de las cadenas de peptidoglucano, las cuales juegan un papel importante en la fuerza y rigidez a la pared celular, igualmente bloquea la división y el crecimiento celular, lo que conlleva a un efecto bactericida<sup>43,44</sup>.

También se identificaron los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) destacando principalmente los alcaloides, flavonoides y antocianinas; seguido de taninos, esteroides y fenoles ; estos resultados son similares a los obtenidos por **Candia C. (2016)** quien reveló que los principales metabolitos en esta especie vegetal son flavonoides, taninos, esteroides y alcaloides, los cuales podrían ser los responsables de la actividad antimicrobiana<sup>22</sup>. Los tres grupos más importantes de compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles; ellos en general forman complejos irreversibles con las proteínas solubles y extracelulares de los microorganismos, por lo que pueden inhibir el crecimiento de las bacterias debido a las propiedades oxidativas, alterando la hidrofobicidad y la carga superficial de las células, dañando la membrana celular <sup>17</sup>. así mismo los flavonoides producen inhibición de la biosíntesis de ácidos

nucleicos y otros procesos metabólicos. Los taninos pueden prevenir la expresión de las fimbrias de *E. coli*, y los esteroides pueden interferir con la síntesis de los componentes de la membrana bacteriana, ocasionando

finalmente la muerte de los microorganismos <sup>19, 21, 22</sup>

## IV.2 Conclusiones

- El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) presenta actividad antibacteriana *in vitro* frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.
- El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) a la concentración del 75% presenta mayor actividad antibacteriana frente a la cepa *Escherichia coli* ATCC 25922.
- La cepa *Escherichia coli* ATCC 25922 presenta mayor sensibilidad a la amoxicilina en comparación con el extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) a la concentración de 75%, y nula sensibilidad a la concentración del 50% y 25%.
- El extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavon) presenta metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides y antocianinas, compuestos químicos relacionados con la actividad antimicrobiana.

## IV.3 Recomendaciones

- Realizar estudios de la actividad antibacteriana de diferentes extractos de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) frente a otras cepas bacterianas para determinar su espectro frente a otros microorganismos.
- Realizar estudios de comparación de las diferentes variedades de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon), procedentes de diferentes

áreas geográficas, debido a que existen estudios que indican que la concentración de los principios activos puede variar en cada una de ellas.

- Investigar cada uno de los componentes fitoquímicos de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon), para evaluar su actividad antibacteriana de forma independiente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ignacio A. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. Universidad Europea de Madrid. España 2015. <https://www.elsevier.es/esrevista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X14003413>
2. Oromí J. Resistencia bacteriana a los antibióticos. Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Barcelona. 2000 <https://www.elsevier.es/esrevista-medicina-integral-63-articulo-resistencia-bacteriana-losantibioticos-10022180>
3. Zuñiga I. Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. Jefe del Departamento de Epidemiología. México 2017 <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2017/ei173e.pdf>
4. Gómez O. Enfermedad diarreica aguda por *Escherichia coli* enteropatógenas en Colombia. Escuela de la Universidad de Vanderbilt de Medicamento. Chile. 2014. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n5/art10.pdf>
5. Mosquito S., Ruiz J., Ochoa T. Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. Revista Peruana Medicina Experimental Salud Pública. Perú, 2011. <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n4/a13v28n4.pdf>
6. Dominguez J. Estudio y evaluación de la dinámica de resistencia a cefalosporinas y fluoroquinolonas en *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* en animales de producción Universidad Nacional de Buenos Aires. 2016

<http://repositorioubu.sisbi.uba.ar/gsd/collect/posgraafa/index/assoc/HWA>

2

[765.dir/2765.PDF](#)

7. Ponce S. Estado Actual de la Resistencia Antimicrobiana en México.

Reporte de los Hospitales de la Red del PUCRA: Resistencia antimicrobiana y Consumo de antibióticos. Universidad Nacional Autónoma de México 2018.

[http://www.puis.unam.mx/slider\\_docs/reporte-ucradigital.pdf](http://www.puis.unam.mx/slider_docs/reporte-ucradigital.pdf)

8. Giono S., Santos J, Morfín M. y cols. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. Universidad de Guadalajara.

México. 2020

9. Palan A. Para 2050, Nuevas investigaciones del Banco Mundial muestran que la resistencia a los antimicrobianos incrementaría la pobreza y afectaría mayormente a los países más pobres. Washington DC. Estados Unidos, 2016.

<https://www.bancomundial.org/es/news/press-release/2016/09/18/by2050-drug-resistant-infections-could-cause-global-economic-damage-on-par-with-2008-financial-crisis>

10. Naciones Unidas. La OMS alerta de que el desarrollo de nuevos antibióticos está “estancado”. Noticia ONU Murada global Historias

Humanas. 2022 <https://news.un.org/es/story/2022/06/1510742>

11. Centro Nacional de Epidemiología y Control de Enfermedades. Boletín Epidemiológico del Perú. Lima, Perú 2019

<https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2019/15.pdf>

12. Vásquez M y Lázaro D. Prácticas higiénicas y presencia de *Staphylococcus aureus* y coliformes fecales en manipuladores de alimentos de una institución universitaria. Universidad Nacional de Trujillo. Lima Perú 2014.

<https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/14215/2E%20260.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

13. Minchan A., Vásquez B., Vásquez C. y cols. Vigilancia y conservación de alimentos. Ministerio de Salud. Lima, Perú  
2018 <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4518.pdf>
14. Lustre H. Los superpoderes de las plantas: los metabolitos secundarios en su adaptación y defensa. Universidad Autónoma de México, 2022  
[https://www.revista.unam.mx/wp-content/uploads/v23\\_n2\\_a10.pdf](https://www.revista.unam.mx/wp-content/uploads/v23_n2_a10.pdf)
15. Chica A. Y Guayaquil S. Estudios de la actividad antimicrobiana del extracto alcohólico del tubérculo Mashua (*Tropaeolum Tuberosum*) en sus diferentes especies. Universidad de Guayaquil. Ecuador  
2019. <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/reduq/39906/1/BCIEQ-T-0360%20Chica%20Rosales%20Ang%C3%A9lica%20Mar%C3%ADa%3B%20Guayaquil%20Manzaba%20Shirley%20Lisseth.pdf>
16. Bisso A. Fundamentos básicos de la terapia antimicrobiana. Revisión de la Sociedad Peruana de Medicina Interna. Lima Perú 2018.  
<http://www.medicinainterna.net.pe/sites/default/files/Fundamentos%20b%C3%A1sicos%20de%20la%20terapia%20antimicrobiana%20.pdf>
- 17.- Abud K., Bustos L., Coven E y Fang L. Actividad antimicrobiana de los compuestos fenólicos sulfonados en el sistema de conductos radiculares. revisión sistemática. Revista Ciencia y Salud Virtual. 2015.  
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6635370.pdf>
18. Macha F. y Taípe D. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* RUIZ & PAV “Mashua Negra” sobre el crecimiento in vitro de *Escherichia coli*. Universidad Peruana los Andes. Huancayo. Perú. 2021.  
<https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/2625/TE%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

19. Diaz L. y Garzón D. (2019) Capacidad antimicrobiana del extracto de la parte aérea de *Tropaeolum tuberosum* (mashua) frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Universidad de la Salle, Bogotá. 2017.  
[https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1069&context=ing\\_alimentos](https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1069&context=ing_alimentos)
20. Mejía F., Salcedo J., Vargas S., Serna J. y Torres L. (2018) Capacidad antioxidante y antimicrobiana de tubérculos andinos (*Tropaeolum tuberosum* y *Ullucus tuberosus*). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Colombia 2018.  
<https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/3135084>
21. 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. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque Perú 2016.  
<https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/1026/BC- TES-5826.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
22. Candía C. Evaluación del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso del Isaño “*Tropaeolum tuberosum*” en cepas de *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC y clínicas causantes de infecciones del tracto urinario. Universidad Alas Peruanas, Arequipa Perú. 2016  
[https://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12990/3680/Tesis\\_Evaluaci%  
c3%b3n\\_Antibacteriano\\_Infecciones.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12990/3680/Tesis_Evaluaci%c3%b3n_Antibacteriano_Infecciones.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
23. Hernández R., Fernández C. y Baptista P. Metodología de la Investigación. 6ta edición, McGRAW-HILL / Interamericana Editores, S.A. México, 2014  
<https://www.esup.edu.pe/wpcontent/uploads/2020/12/2.%20Hernandez,%20Fer>

[nandez%20y%20Baptista-  
Metodolog%C3%ADa%20Investigacion%20Cientifica%206ta%20ed.pdf](#)

24. López-Roldán P. y Fachelli S. Metodología de la investigación social cuantitativa. Universidad Autónoma de Barcelona. 2015

[https://ddd.uab.cat/pub/caplli/2016/163564/metinvsocua\\_a2016\\_cap1-2.pdf](https://ddd.uab.cat/pub/caplli/2016/163564/metinvsocua_a2016_cap1-2.pdf)

25. Fresno C. Metodología de la Investigación: Así de Fácil. Córdoba, Argentina 2019 <https://es.scribd.com/document/412876475/Metodologia-de-La-Investigacion-Asi-de-Facil-1>

26.- Ñañez J. y Vivas E. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC

8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. Lima, Perú 2021.

<https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/452/%e2%80%9cACTIVIDAD%20ANTIBACTERIANA%20DEL%20EXTRACTO%20HIDROALCOH%c3%93LICO%20DE%20CORTEZA%20DE%20Ficus%20citrifolia%20Mill.%20FRENTE%20A%20CEPAS%20DE%20Escherichia%20coli%20ATCC%208739%20y%20Pseu.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

27. Morales A. Hernández J., Valladares B., *et al.* Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico *Croton draco* sobre bacterias de importancia sanitaria. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México 2020

[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-61322020000100101](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322020000100101)

28. Stella L. y Marín D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Universidad Tecnológica de Pereira. 2009

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4713047.pdf>

29. Jimenez M., Miranda M., Chóez I., Gutierrez Y., Scull R. y Abreu J. Caracterización morfológica, química y actividad antiinflamatoria de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pav.) Kuntze. (Tropaeolaceae) var. Rosa. Universidad de Guayaquil. Ecuador 2021.  
<http://www.revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/viewFile/574/408>
30. Masschelein L. Los solventes. Publicaciones del centro Nacional de Conservación y Restauración. Chile 2004  
<http://www.iber museos.org/wpcontent/uploads/2020/05/los-solventes-chi.pdf>
31. Muñoz J. y Idrogo G. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ranunculus praemorsus* Kunth ex DC (centella) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923. Universidad María Auxiliadora. Lima, Perú 2022.  
<https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/895/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
32. Soto, L. Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico del zumo de los frutos *Passiflora mollissima*, frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt; Perú 2022.  
<http://hdl.handle.net/20.500.14140/1144>
33. Arellano K., Herrera J., Quispe M., Espinoza C., Veliz N. y Orihuela W. Evaluación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de tres colores de pétalos de Mastuerzo (*Tropaeolum majus* L.), Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo, Perú 2015.  
<https://www.redalyc.org/pdf/3719/371943527004.pdf>
34. <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1160>
35. Bonifacio E. y Chumpitaz J. Actividad antibacteriana del extracto atomizado de *Lepidium meyenii* Walp (maca morada) sobre cepas de *Escherichia coli* en estudios in vitro. Lima, Perú 2021.

36. Espinoza C. y Suyon M. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Crescentia cujete* L. (Totumo) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Universidad María Auxiliadora. Lima, Perú 2023.  
<https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1502/TESES>

[%20ESPINOZA-SUYON.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1502/TESES%20ESPINOZA-SUYON.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

37. Cotrina, C. Extracto hidroalcohólico de las hojas de Mimosa púdica I. (dormilona) y su efecto antibacteriano *in vitro* en *Staphylococcus aureus* comparado con clindamicina. Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt; Perú 2022. <http://hdl.handle.net/20.500.14140/1142>

38. Rivera A. y Vides N. Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las hojas de *Fragaria x ananassa* Duch. “fresa” sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Universidad María Auxiliadora. Lima, Perú 2021.

<https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/397>

39. Garmendia M. Aplicaciones de Estadística Básica en Microsoft Excel. Universidad Nacional Agraria. Lima Perú 2020.

<https://repositorio.una.edu.pe/handle/20.500.12970/397>

40. Tobo L. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos acuosos de *Pentacalia ledifolia* y *Pentacalia vaccinioides* (Fam. Asteraceae) sobre cepas de *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens* y *Salmonella Typhimurium*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá 2009.

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8454/tesis421.pdf?sequence=1>

41. Ministerio de desarrollo agrario y riesgo. Manual de las Buenas Prácticas de Laboratorio. Lima Perú 2021.

[file:///C:/Users/avant/Downloads/MANUAL%20DE%20BUENAS%20PR%C](file:///C:/Users/avant/Downloads/MANUAL%20DE%20BUENAS%20PR%C3%A1cticas%20de%20Laboratorio.pdf)

[3%81CTICAS%20DE%20LABORATORIO.pdf](#)

42. Chiroque M. Buenas Prácticas de Laboratorio para control de calidad en la industria farmacéutica. Ministerio de Salud. Lima Perú 2017. [http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Establecimie  
ntos  
/Reuniones/Reunion\\_Tecnica/IV\\_ControlCalidad.pdf](http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Establecimie<br/>ntos<br/>/Reuniones/Reunion_Tecnica/IV_ControlCalidad.pdf)

# ANEXOS

**ANEXO A: Matriz de consistencia**

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon) frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Evaluar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon) frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	El extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon) presenta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿A qué concentración el extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon) presenta mayor actividad antibacteriana frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Determinar a qué concentración el extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon) presenta mayor actividad antibacteriana frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	El extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon) a mayor concentración presenta mejor actividad antibacteriana frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
¿Cuál es la susceptibilidad antibacteriana de la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon) a concentraciones de 25%, 50% y 75%, comparado con la amoxicilina?	Determinar la susceptibilidad antibacteriana de la cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon) a concentraciones de 25%, 50% y 75%, comparado con la amoxicilina.	La cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 es más susceptible al extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon) a concentraciones de 25%, 50% y 75%, comparado con la amoxicilina.
¿Cuáles son los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon)?	Determinar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon)?	El extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon) posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana
<b>PROCEDIMIENTO PARA COLECTA DE DATOS USANDO EL CUESTIONARIO</b>		
1. Recolección de la muestra vegetal		

2. Identificación taxonómica
3. Obtención del extracto
4. Prueba de solubilidad
5. Marcha fitoquímica
6. Determinación de la actividad antibacteriana
7. Análisis estadístico de los datos

## ANEXO B:

### Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
<b>(V.I)</b> <b>Extracto de Mashua negra (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz &amp; Pavon)</b>	Es una solución obtenida de un recurso vegetal mediante la técnica de maceración, haciendo uso de un solvente para solubilizar los componentes presentes en la muestra estudiada.	Es una solución a base del extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon) a diferentes concentraciones obtenida mediante la técnica de maceración, a la cual se le aplica un solvente para solubilizar los componentes presentes en la muestra estudiada	Concentración del Extracto hidroalcohólico de <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon (Mashua negra)	25%  50%  75%	Razón	No aplica	Porcentaje
			Efecto fitoquímico	Presencia de metabolitos secundarios	Nominal	No aplica	Ausente (-) Leve (+) Moderado (++) Abundante (++++)
<b>(V.D)</b> <b>Actividad antimicrobiana frente a las cepas de <i>Escherichia coli</i> 25922 <i>In vitro</i></b>	Es un compuesto obtenido de forma natural o biosintética que tiene la acción de inhibir la multiplicación bacteriana y	Es un compuesto a base de extracto hidroalcohólico de Mashua negra ( <i>Tropaeolum Tuberosum</i> Ruiz & Pavon) cuya acción es matar e inhibir la multiplicación de la cepa <i>Escherichia coli</i> , la cual es medida por difusión agar KirbyBauer mediante el diámetro de halos de inhibición.	Halo de inhibición del crecimiento bacteriano	Diámetro del Halo de inhibición (mm)	Razón	No aplica	<b>Escala de Durafford</b> ≤ 8mm: Nula 9 - 14 mm: sensibilidad límite 15 – 19 mm: Sensibilidad media ≥ 20mm: Sumamente sensible

	matar a las bacterias.						
--	------------------------	--	--	--	--	--	--

**ANEXO C:**

**Instrumentos de recolección de datos**

**C.1. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon)**

<b>SOLVENTE</b>	<b>RESULTADOS</b>
<b>Hexano</b>	

<b>Cloroformo</b>	
<b>Éter de petróleo</b>	
<b>Etanol</b>	
<b>Metano</b>	
<b>Agua destilada</b>	

**Leyenda:**

(-) No soluble o insoluble

(+) Poco soluble

(++) Mediana o moderadamente soluble

(+++) Completamente soluble

**C.2: Marcha Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon)**

<b>METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	<b>REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>COMENTARIO</b>
<b>Alcaloides</b>			
<b>Flavonoides</b>			
<b>Esteroles</b>			
<b>Saponinas</b>			
<b>Taninos</b>			
<b>Fenoles</b>			

**Leyenda:**

(-) La coloración o precipitado no se evidencia

(+) La coloración o precipitado se evidencia poco

(++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente

(+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

**C.3. Análisis Microbiológico del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon)**

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	No. Repet	Agua destilada esteril (control negativo)	Concentración del Extracto			Amoxicilina (Control positivo)
			25%	50%	75%	
Diámetro de halos de inhibición	1					
	2					
	3					
	Promedio					

**Leyenda:**

Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)

(-) Nula: Diámetro (<8mm)

(+) Sensible bajo: Diámetro (8-14mm)

(++) Medio (muy sensible): Diámetro (14-20mm)

(+++) Sumamente sensible: Diámetro (>20mm)

Control negativo: Agua destilada estéril

Controles positivos: Amoxicilina

ANEXO D:

Ficha taxonómica de la Mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA  
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA N°34-2022-HUSA

El director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra biológica presentada por Yesica Chaparro Quenta y Diego Cama Arias, Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora, para la realización de "ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE MASHUA NEGRA (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) SOBRE CEPAS DE *Escherichia coli* ATCC 25922". La muestra fue enviada al laboratorio de Botánica al estado fenológico seco, para su determinación en el Herbarium Arequipense (HUSA) y corresponde a la siguiente especie.

División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsidae
Subclase	Rosidae
Orden	Brasicales
Familia	Tropaeolaceae
Genero	<i>Tropaeolum</i>
Especie	<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz & Pavon

Var. Chi 'yar isañu

Se le expide la presente a solicitud del interesado

Arequipa, 29 de noviembre del 2022

Mg. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR

*Herbarium Arequipense* (HUSA) Avenida

Daniel Alcides Carrión s/n cercado-Teléfono: (054) 237755 / 993659045

## ANEXO E:

### Constancia de elaboración el extracto y marcha fitoquímica

INDUSTRIAS MÉDICAS Y FARMACÉUTICAS S.R.L.  
Urb. José Santos Atahualpa Mz. F lote 09 Cerro Colorado – Arequipa

---

*"Año del Fortalecimiento de la soberanía Nacional"*

### CONSTANCIA

El Gerente General de Industrias Médicas y Farmacéuticas S.R.L. hace constar que los Bachilleres:

*DIEGO ALEXANDER CAMA ARIAS Y*

*YÉSICA CHAPARRO QUENTA*

Han realizado la **ELABORACION DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO Y MARCHA FITOQUIMICA DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE MASHUA NEGRA TROPAEOLUM TUBEROSUM RUIZ & PAVON** SOBRE CEPAS DE **ESCHERICHIA COLI ATCC 25922**; como parte del desarrollo del trabajo experimental de la tesis denominada:

"Actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de Mashua negra (Tropaeolum Tuberosum Ruiz & Payon) sobre cepas de escherichia coli ATCC 25922" en las instalaciones del laboratorio de *Industrias Médicas y Farmacéuticas S.R.L.*, habiendo realizado obtención del extracto hidroalcohólico y marcha fitoquímica; bajo supervisión del profesional responsable del área, durante el periodo comprendido del 12 febrero al 4 marzo del año 2023.

Se expide la presente a pedido de los interesados para los fines que viera por conveniente.

Arequipa, 15 de marzo del 2023



Wilber Carlos Barillo Ichocan  
GERENTE GENERAL

**ANEXO F:**  
**Constancia del análisis microbiológico**

**INDUSTRIAS MEDICAS Y FARMACEUTICAS S.R.L.**  
Urb. José Santos Atahualpa Mz. F lote 09 Cerro Colorado – Arequipa

---

*"Año del Fortalecimiento de la soberanía Nacional"*

**CONSTANCIA**

El Gerente General de Industrias Médicas y Farmacéuticas S.R.L. hace constar que los Bachilleres:

***DIEGO ALEXANDER CAMA ARIAS Y***

***YESICA CHAPARRO QUENTA***

Han desarrollado los **ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE MASHUA NEGRA "TROPAEOLUM TUBEROSUM RUIZ & PAVÓN" SOBRE CEPAS DE ESCHERICHIA COLI ATCC 25922**; en las instalaciones de Control de Calidad, área de Microbiología de *Industrias Médicas y Farmacéuticas S.R.L.*; empleando las técnicas aprobadas en su proyecto, equipos y materiales proporcionados por la institución; investigación desarrollada desde el 12 de Febrero al 4 de Marzo del 2023.

Se expide la presente a pedido de los interesados para los fines que viera por conveniente.

Arequipa, 15 de marzo del 2023

  
**Wilber Carlos Benito Ichaca**  
GERENTE GENERAL

**ANEXO G:  
Certificado de *Escherichia coli* ATCC 25922**

	
<b>Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release</b>	
<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> <i>Escherichia coli</i> <b>Catalog Number:</b> 0335 <b>Lot Number:</b> 335-511** <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™* <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2022/4/30 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Mary L. Bowman <b>Release Date:</b> 2020/5/18
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly eros edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, eros edge & rough <b>Microscopic Features:</b> Gram negative straight rod	<b>Medium:</b> SBAP  <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System: MALDI-TOF (1)</b> See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): negative (1) Urease (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 25 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm
 <b>Ananda Kuperus</b> Quality Control Manager <b>AUTHORIZED SIGNATURE</b>	
<small>**Disclaimer: The lot number(s) of the lot number appearing on the product label and packing file are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual issue lot number.</small>	
<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>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
 <small>ATCC Accredited Derivative CERT #1955.02</small>	<small>(1) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 <small>TESTING CERT #2655.01</small>	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>

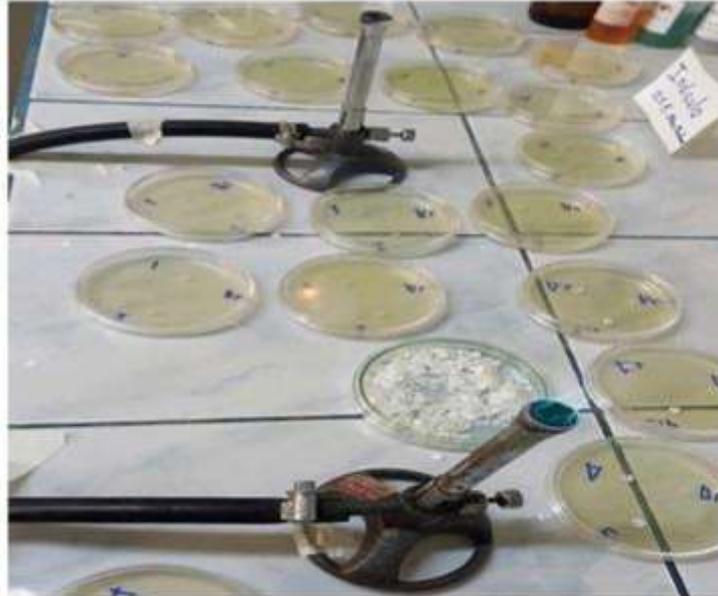
## ANEXO H: Evidencias Fotográficas



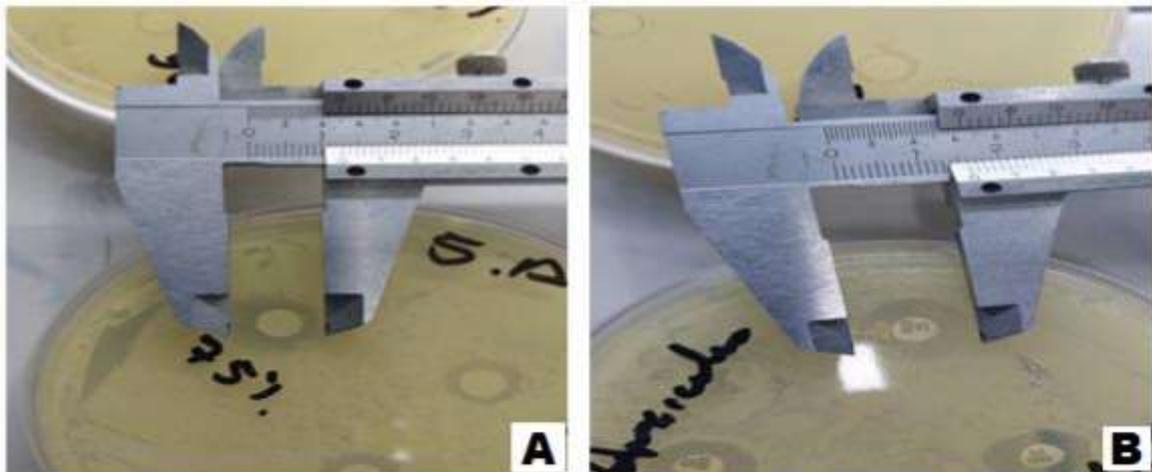
Anexo H-1: Preparación de las placas para siembra del inóculo bacteriano.



Anexo H-2: Rotulado de las placas Petri, para realizar el ensayo microbiano

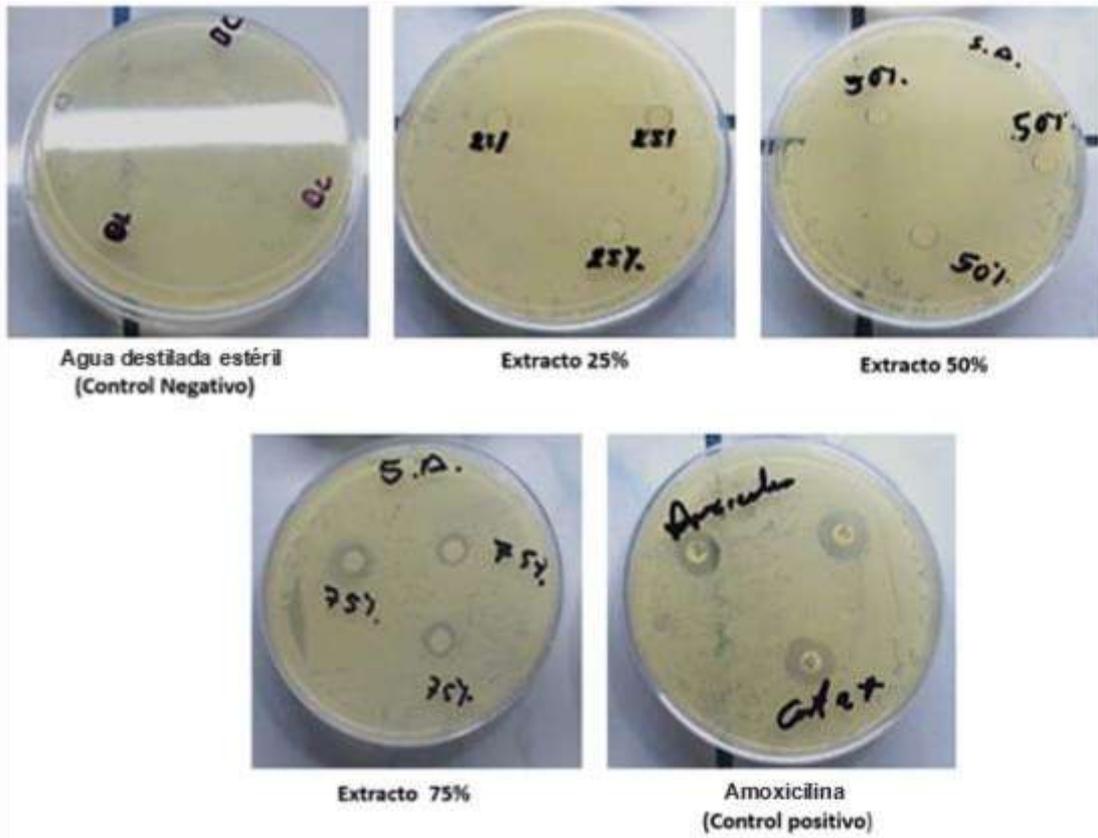


Anexo H-3: Colocación de los discos de sensibilidad.

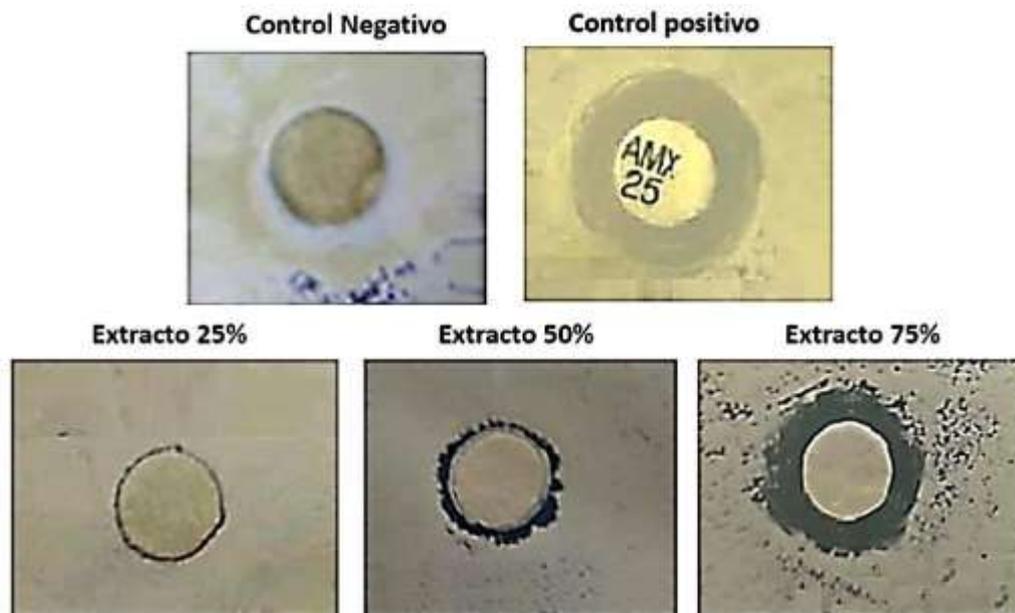


Anexo H-4: Medición de los halos de inhibición.

A.- Extracto al 75%. B.- Control positivo (amoxicilina)



Anexo H-5: Halos de inhibición obtenidos en el ensayo



Anexo H-6: Halos obtenidos por cada concentración del extracto, control negativo y control positivo