



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

**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Capsicum annum*
(PIMIENTO) FRENTE CEPAS DE
Escherichia coli ATCC 25922**

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

AUTORES:

BACH. CAYETANO COLAN ELIZABETH DEL PILAR <https://orcid.org/0009-0004-0918-7120>

BACH. CUEVA FUENTES FIORELA <https://orcid.org/0009-0006-0496-4298>

ASESORA:

Mg. TOVAR TICSE, ROSMERY DIONICIA

<https://orcid.org/0000-0001-9520-5372>

LIMA – PERÚ

2023

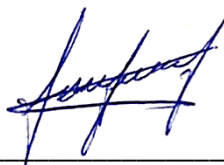
DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Elizabeth del Pilar Cayetano Colan, con DNI 42028084 en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título "**EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Capsicum annum* (PIMIENTO) FRENTE 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 18 % 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, 19, de enero 2024.



(Nombre y Firma)

Autor: Cayetano Colan, Elizabeth del Pilar



(Nombre y Firma)

Asesor: Tovar Ticse, Rosmery Dionicia

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

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Fiorela Cueva Fuentes, con DNI 44448892 en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TÍTULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título "**EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Capsicum annuum* (PIMIENTO) FRENTE 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 18 % 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, 19, de enero 2024.



(Nombre y Firma)

Autor: Cueva Fuentes, Fiorela



(Nombre y Firma)

Asesor: Mg.Tovar Ticse, Rosmery Dionicia

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

INFORME ORIGINALIDAD – TURNITIN

EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Capsicum annum* (PIMIENTO)
FRENTE CEPAS DE *Escherichia coli* ATCC 25922

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

19%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

8%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.uma.edu.pe

Fuente de Internet

17%

2

repositorio.upao.edu.pe

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

DEDICATORIA

Mi fe en Dios me da fuerzas en mi camino y agradezco su guía constante. También quiero expresar mi aprecio por la protección y el apoyo de mis queridos padres, en especial a ti papá Ulises C. C. que eres la pieza fundamental en mi vida. A mis hijos que me siento afortunada de tenerlos a mi lado. A mi esposo por su amor y respaldo que es invaluable. A mis hermanos que los amo con todo el corazón. A usted Dra Clorinda S. J. mi agradecimiento infinito por todo lo brindado. Les agradezco a todos ustedes por la motivación para culminar este logro.

Bach. Cayetano Colan, Elizabeth Del Pilar

A Dios, Jesucristo por la vida y salud; a mis hijos Sahory y Kendric, que fueron mi valor y fortaleza para iniciar y seguir adelante; a mis padres Alejandro C. E. y Lucia F. P. quienes fueron mi soporte y apoyo en todo, que cada paso que doy, logro obtenido lo hago pensando en ustedes y que se sientan orgullosos de mí. A mi esposo Thonny M. C. mi compañero de vida por su amor y ayuda incondicional, por darme la tranquilidad para seguir adelante cuidando de nuestros hijos y hogar.

También a mis hermanos Alex, Jhon y Flor, gracias porque sé que siempre estarán dispuestos apoyarme en lo que necesite al igual que yo, mi amor y consideración lo tendrán por toda la vida juntos.

Bach. Cueva Fuentes Fiorela

AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la Universidad María Auxiliadora por brindarnos la educación necesaria para nuestro crecimiento profesional y el logro de nuestras metas.

También deseamos agradecer a nuestros padres, familiares y compañeros por su apoyo constante a lo largo de nuestra investigación.

Extendemos nuestro agradecimiento a nuestra tutora, la Magíster Tovar Ticse, Rosmery Dionicia, por su dedicación y paciencia en cada fase de este proyecto de investigación.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	7
II.1. Enfoque y diseño de investigación.....	7
II.2. Población, muestra y muestreo.....	7
II.3. Variables de investigación	8
II.4. Técnica e instrumento de recolección de datos	8
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos.....	9
II.6. Procesamiento del análisis estadístico	11
II.7. Aspectos éticos.....	12
III. RESULTADOS	13
IV. DISCUSIÓN.....	19
IV.1. Discusión de resultados.....	19
IV.2. Conclusiones.....	22
IV.3. Recomendaciones	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
ANEXOS	29
ANEXO A. Operacionalización de la variable o variables	30
ANEXO B. Instrumentos de recolección de datos.....	31
ANEXO C. Certificado Taxonómico	34
ANEXO D. Informe de análisis de laboratorio	35
ANEXO E. Certificado de Agar Mueller Hinton	36
ANEXO F. Certificado de análisis de Cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	39
ANEXO G. Evidencias fotográficas.....	41
ANEXO H. Porcentaje de rendimiento	50
ANEXO I. Constancia de recolección de la muestra	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prueba solubilidad de <i>Capsicum annuum</i>	13
Tabla 2. Promedio de los valores obtenidos de las mediciones de los halos de inhibición del extracto etanólico de semillas de <i>Capsicum annuum</i> sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	14
Tabla 3. Análisis descriptivos estadísticos de los resultados obtenidos en la prueba microbiológica de la variedad bacteriana <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	14
Tabla 4. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de semillas de <i>Capsicum annuum</i> (pimiento)	15
Tabla 5. Pruebas de ANOVA de los halos obtenidos frente <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	16
Tabla 6. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	17
Tabla 7. Prueba de subconjuntos de Tukey para <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922..	18
Tabla 5. Ensayo microbiológico.....	31
Tabla 6. Marcha fitoquímica del extracto etanólico	32
Tabla 7. Ensayo de Solubilidad	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Recolección de la muestra <i>Capsicum annum</i> (pimiento)	41
Figura 2. Muestra de tipo <i>Capsicum annum</i> (pimiento)).....	41
Figura 3. Lavado de semillas.....	41
Figura 4. Lavado de la muestra.....	41
Figura 5. Procedimiento de secado de la muestra	42
Figura 6. Procedimiento de molienda de la muestra	42
Figura 7. Preparación del macerado del extracto etanólico	42
Figura 8. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico.....	43
Figura 9. Proceso de vertido en placas	43
Figura 10. Obtención de extracto seco.....	43
Figura 11. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad	44
Figura 12. Resultado de prueba de solubilidad	44
Figura 13. Adición de extracto a los tubos de ensayo	45
Figura 14. Resultado de la marcha fitoquímica	45
Figura 15. Pesando del Agar.....	46
Figura 16. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica	46
Figura 17. Agar Mueller Hinton.....	46
Figura 18. Placas preparadas	47
Figura 19. Cepa biológica de tipo: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	47
Figura 20. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mc. Farland	47
Figura 21. Rotulado de placas.....	48
Figura 22. Sembrado de la cepa biológicas en las placas	48
Figura 23. Efectuando pozos en agar con ayuda de un sacabocado.....	48
Figura 24. Preparación del extracto de semillas de <i>Capsicum annum</i>	49
Figura 25. Incubación de placas.....	49
Figura 26. Lectura de resultados.....	49

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Materiales y métodos: cuantitativo, experimental, explicativo y transversal; población: 20 Kg de *Capsicum annuum*; muestra de 1 kg de semilla de *Capsicum annuum*; por otro lado, se empleó 10 placas Petri inoculadas con *Escherichia coli*. Además, se realizó el tamizaje fitoquímico, difusión en agar en pozos, por grupos al 25%, 50% y 75% contra ciprofloxacino 5ug.

Resultados: Las medias del 25%, 50% y 75% del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) frente *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron más bajos que los registrados por Ciprofloxacino 5ug. La prueba de ANOVA manifestó ($p < 0,05$) en comparación con el conjunto de control. Además, se identificó la presencia de alcaloides, taninos, azúcares reductores, compuestos fenólicos y lactonas α , β -insaturadas.

Conclusión: El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) no presentó efecto antibacteriano al 25%, 50% y 75% frente *Escherichia coli* ATCC 25922.

Palabras clave: Efecto antibacteriano, *Capsicum annuum*, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Objective: Determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of *Capsicum annuum* (pepper) seeds against strains of *Escherichia coli* ATCC 25922.

Materials and methods: quantitative, experimental, explanatory and cross-sectional; population: 20 kg of *Capsicum annuum*; 1 kg sample of *Capsicum annuum* seed; On the other hand, 10 Petri dishes inoculated with *Escherichia coli* were used. In addition, phytochemical screening was carried out, diffusion on agar in wells, by groups at 25%, 50% and 75% against ciprofloxacin 5ug.

Results: The average concentrations of 25%, 50% and 75% of the ethanolic extract of *Capsicum annuum* (pepper) seeds against *Escherichia coli* ATCC 25922 were lower than those recorded by Ciprofloxacin 5ug. The ANOVA test showed ($p < 0.05$) compared to the control set. Additionally, the presence of alkaloids, tannins, reducing sugars, phenolic compounds and α , β -unsaturated lactones was identified.

Conclusion: The ethanolic extract of *Capsicum annuum* (pepper) seeds did not present antibacterial effect at 25%, 50% and 75% against *Escherichia coli* ATCC 25922.

Keywords: Antibacterial effect, *Capsicum annuum*, *Escherichia coli*

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones causadas por la bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922 representan un importante problema de salud pública en todo el mundo (1). *Escherichia coli*, es una bacteria gramnegativa que normalmente habita en el intestino humano y de animales. Sin embargo, ciertas cepas de *E. coli* pueden volverse patógenas y causar una variedad de infecciones en seres humanos (2).

Según la OMS, un asombroso número de 600 millones de individuos se ven afectados por enfermedades transmitidas a través del consumo de alimentos. En el año 2010, las consecuencias fueron especialmente devastadoras, ya que alrededor de 420 mil personas perdieron la vida debido a patologías como la salmonelosis y las infecciones causadas por la bacteria *Escherichia coli* (3). Lo que resulta aún más alarmante es que de este total, alrededor de un tercio son niños menores de cinco años, vulnerables e indefensos ante estas enfermedades. Sin embargo, resulta aún más desolador cuando se observa que en el ámbito de la población pediátrica, la tasa de mortalidad asciende al 4.2%, lo que representa una proporción preocupante (4).

De igual importancia, alrededor del 16,5 % del mundo sufrió una forma de infección asociada a *Escherichia coli* (5). En Arabia Saudita han reportado la prevalencia de una cepa predominante de *E. coli*, mostrando insensibilidad a los antibióticos betalactámicos (6). En Irán, el 26 % de ingresados con síntomas diarreicos poseen detección de esta microorganismo (7). En Nepal, se ha observado una cifra aún más alta, alcanzando el 44,5 %, y además se ha descubierto que las cepas cultivadas muestran resistencia en al menos dos antimicrobianos (8). Por otro lado, en Etiopía, se ha registrado una prevalencia del 15,3 %, siendo la principal causa, a la ingesta de alimentos sin medidas adecuadas de saneamiento (9). En naciones como Rumania, se ha descubierto que un impresionante 79 % de los pacientes pediátricos con diarrea padecen infecciones relacionadas con una de las toxinas producidas por esta bacteria. Un estudio realizado en EE. UU reveló que el 99,3 % de las muestras de agua destinada al consumo humano contenían rastros de esta bacteria (10).

En el contexto peruano 2019, el Ministerio de Salud lleva un registro exhaustivo de los casos de diarrea. Esta condición de salud es una preocupación constante debido a su alta prevalencia y al impacto que puede tener en la población.

Por otro lado, la diarrea, caracterizada por evacuaciones intestinales frecuentes y líquidas, puede ser causada por diversas razones, incluidas infecciones bacterianas, virales o parasitarias, así como factores ambientales y de higiene. Durante ese año, se evidenció el incremento significativo de muertes a raíz de dicha enfermedad, con una prevalencia que excedió el 65 % en la misma comunidad (11). La infección por *Escherichia coli* (*E. coli*) puede ser causada por diferentes cepas de la bacteria y puede manifestarse de diversas formas, desde infecciones leves hasta enfermedades graves. Algunas de las causas más comunes de infección por *E. coli* incluyen el consumo de alimentos contaminados: Una de las principales vías de infección es a través de la ingestión de alimentos o agua contaminadas con cepas patógenas de *E. coli*, contaminación fecal-oral, el contacto directo con animales, con personas infectadas y consumo de productos lácteos no pasteurizados, puede tener una variedad de consecuencias desde cuadros leves de malestar estomacal hasta enfermedades más graves como gastroenteritis, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH), que puede causar insuficiencia renal y otras complicaciones graves (12).

Ante esta situación problemática, está en aumento el interés por la búsqueda de nuevas opciones que posean una efectividad comparable a de los antibióticos tradicionales, al mismo tiempo que sean seguras para los consumidores. Por consiguiente, múltiples investigaciones se enfocan en explorar el potencial de moléculas provenientes de semillas, las cuales contienen componentes químicos capaces de presentar actividad antimicrobiana frente diferentes microorganismos.

Para ello se formula la siguiente pregunta:

¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922?

Así mismo los problemas específicos:

- ¿Qué tipo de metabolitos secundarios responsables del efecto antibacteriano in vitro posee el extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento)?
- ¿A qué concentración el extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) presenta efecto antibacteriano in vitro frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) comparado con ciprofloxacino 5 µg frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922?

Capsicum annuum, es una especie vegetal de la familia de las solanáceas, conocido comúnmente como pimiento o chile, la semilla es la parte de la planta que se utiliza para la reproducción y germinación de nuevas plantas. En el contexto de la planta de pimiento, las semillas son las estructuras pequeñas y generalmente ovaladas que se encuentran en el interior de los frutos. Estas semillas cuando se cultivan pueden germinar y desarrollarse en nuevas plantas de pimiento. Además de su función reproductiva también pueden contener nutrientes y compuestos bioactivos que son importantes para la salud de la planta y asimismo sus aplicaciones medicinales y culinarias (13).

Escherichia coli (*E. coli*) es una bacteria comúnmente encontrada en los intestinos de los seres humanos y otros animales de sangre caliente. La cepa específica *E. coli* ATCC 25922 es una cepa de referencia utilizada en laboratorios y centros de investigación para propósitos de identificación y pruebas de sensibilidad a antibióticos. La designación "ATCC 25922" se refiere al número de catálogo asignado por el American Type Culture Collection (ATCC), que es una organización que mantiene y distribuye cultivos microbianos para investigación y otros propósitos (14).

Como antecedentes internacionales tenemos:

Aldayel, M (2023) En Arabia Saudita, su objetivo se centró en investigar los efectos del uso de quitosano, pimiento y la combinación de ambos (*Capsicum annuum*) en la inhibición de bacterias patógenas Gram positivas, como *Staphylococcus aureus*, así como bacterias Gram negativas, *Salmonella typhimurium* y *Pseudomonas aeruginosa*. Obteniendo como resultados perfiles antimicrobianos que revelaron

que la combinación de quitosano y pimienta tenía efectos antimicrobianos notables. (15)

Das, J et al (2018) En India, su objetivo principal se llevó a cabo con el propósito de evaluar el impacto de distintas concentraciones de extractos procedentes de *Capsicum chinense* en cepas bacterianas seleccionadas, a saber, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Se determinó que los extractos demostraron ser eficaces en la inhibición de las bacterias evaluadas. Estos resultados indican una relación directa entre el incremento en los porcentajes de concentración de los extractos y su potencial antibacteriano ampliado. (16)

Chibueze, S et al. (2019) En Nigeria, su objetivo principal se centró en la investigación de las propiedades antibacterianas de los extractos crudos y etanólicos obtenidos de *Capsicum frutescens* var. fruta mínima frente a varios patógenos bacterianos (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas aeruginosa*). Los análisis estadísticos demostraron que no existieron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre las diferentes bacterias evaluadas en términos de los extractos crudos y etanólicos. (17)

Entre los antecedentes nacionales están los estudios de:

Elliott, J (2019) En Trujillo, su objetivo principal fue evaluar la actividad antimicrobiana de la oleorresina obtenida del fruto de *Capsicum pubescens* frente a *Escherichia coli* ATCC 35218, en comparación con la estándar amoxicilina/ácido clavulánico (20/10 µg), mediante un diseño experimental in vitro. En conclusión, se determinó que la oleorresina de *Capsicum pubescens* no posee un efecto antimicrobiano significativo sobre *Escherichia coli*. (18)

Rios, E (2019) En Cusco, su objetivo principal fue realizar una comparación en laboratorio de la capacidad antibacteriana in vitro entre el Rocoto (*Capsicum pubescens*) y el extracto de capsaicina frente al *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Se obtuvo que el extracto de capsaicina es considerablemente más eficaz que el Rocoto (*Capsicum pubescens*) contra las cepas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 relacionadas con la enfermedad periodontal, con una eficacia antibacteriana superior en un 100%. (19)

Alva, I (2018) En Trujillo, su objetivo fue analizar la acción bactericida in vitro del extracto etanólico de *Capsicum chinense* en relación a *Escherichia coli*. Se constató que el extracto etanólico de *Capsicum chinense* posee un efecto antibacteriano in vitro frente a *Escherichia coli*, aunque dicho efecto fue modesto según los halos de inhibición observados en las concentraciones evaluadas. (20)

El presente estudio tuvo como justificación teórica, explorar el potencial antibacteriano de los extractos etanólicos de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922. La literatura científica ha reportado propiedades antimicrobianas en compuestos presentes en plantas y vegetales, incluyendo al pimiento. Estudios previos indican que los componentes fitoquímicos presentes en estas semillas podrían tener un efecto inhibitor sobre bacterias patógenas.

A nivel práctico esta investigación tiene implicaciones importantes para la salud pública y la medicina. Las infecciones causadas por *Escherichia coli* representan un riesgo significativo para la salud humana y la seguridad alimentaria. La identificación de alternativas terapéuticas, como el uso de extractos de semillas de pimiento, podría tener un impacto positivo en la prevención y tratamiento de estas infecciones. Si se demuestra que el extracto etanólico de *Capsicum annuum* tiene efecto antibacteriano in vitro, pudo sentar las bases para futuros estudios clínicos y la posible formulación de nuevos agentes antimicrobianos.

A nivel metodológico, se basa en un enfoque in vitro que permite evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de semillas de pimiento de manera controlada y precisa. El uso de cepas estandarizadas de *Escherichia coli* asegura la uniformidad y confiabilidad de los resultados.

El objetivo general de este estudio es: Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Objetivos secundarios:

- Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) responsables del efecto antibacteriano in vitro

- Determinar a qué concentración el extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) presentará efecto antibacteriano in vitro frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) con ciprofloxacino 5 µg frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922

La hipótesis general del estudio corresponde:

El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) presenta efecto antibacteriano in vitro frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Las hipótesis secundarias:

- El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) posee metabolitos secundarios responsables del efecto antibacteriano in vitro.
- El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) tiene efecto antibacteriano in vitro a concentraciones del 25%, 50% y 75% frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922
- El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5 µg frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de investigación

Enfoque: cuantitativo, que involucra la realización de mediciones con el propósito de identificar patrones, desarrollar hipótesis y someterlas a contrastación (21).

Diseño: Experimental, en el cual se llevó a cabo la manipulación y control de la variable independiente con el objetivo de observar y analizar su efecto sobre la variable dependiente (22).

Explicativo: Esto se debe a que el objetivo principal consistió en examinar y comprender la relación causal existente entre las variables y eventos que fueron analizados en la investigación (23).

Transversal: Debido que la recopilación de datos se llevó a cabo en un solo momento, permitiendo obtener una instantánea de la información en ese punto específico en el tiempo (24).

II.2. Población, muestra y muestreo

La población vegetal objeto de estudio consistió por 20 kilos de la especie "*Capsicum annuum*" (Pimiento), fueron recolectados en la provincia de Canta, Distrito de Santa Rosa, parcela Zapan, Km 47 ubicado en el departamento de Lima.

La población microbiana consistió en cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

La muestra vegetal elegida para la investigación fue 1 kg de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento).

La muestra microbiológica se compone de 10 placas de medio de cultivo con cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 para llevar a cabo

El proceso de muestreo se llevó a cabo de manera no probabilística.

Criterios de Inclusión:

- *Capsicum annuum* (pimiento) que estén en estado de madurez completa
- Pimientos seleccionados con altos estándares de calidad.

- Pimientos que provengan de plantas sanas y sin evidencia de enfermedades.

Criterios de Exclusión:

- Mesocarpio de *Capsicum annuum*
- Pimientos que presenten indicios de deterioro, enfermedades o plagas.
- Epicarpio de *Capsicum annuum*

II.3. Variables de investigación

Variable independiente: Extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento)

Definición conceptual: El extracto obtenido mediante el proceso de maceración con etanol de las semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) (17).

Definición operacional: Técnica de maceración de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento).

Variable dependiente: Efecto antibacteriano in vitro frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Definición conceptual: Se refiere a la capacidad de una sustancia o compuesto para inhibir o reducir el crecimiento y la viabilidad de las cepas de la bacteria *Escherichia coli* ATCC 25922 (25).

Definición operacional: El procedimiento microbiológico de las zonas de inhibición producidas por los discos experimentales se realizaron utilizando la técnica de difusión en agar.

II.4. Técnica e instrumento de recolección de datos

Técnica

Se empleó la técnica metodológica de observación, además, se realizó procesos fitoquímicos que involucraron una exploración fitoquímica inicial, en cuanto al análisis microbiológico, se implementó la técnica de difusión en agar Kirby-Bauer.

Instrumento

Fue la ficha de observación, mediante esta ficha, se registró las medidas de los halos inhibitorios generados alrededor de los pozos experimentales en las placas de agar, estas medidas proporcionaron información sobre la capacidad del extracto de pimiento para inhibir el crecimiento de las cepas bacterianas (26).

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1. Recolección de la muestra vegetal

Las semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) fueron obtenidas en el distrito de Santa Rosa, ubicado en la provincia de Canta, dentro del departamento de Lima, previamente a su recolección, se obtuvo la autorización necesaria para llevar a cabo la obtención de las semillas en esta área.

II.5.2. Reconocimiento de la muestra vegetal

La identificación taxonómica de la planta fue llevada a cabo por un biólogo especializado en taxonomía, quien emitió un certificado confirmatorio de la especie *Capsicum annuum* (pimiento).

II.5.3. Preparación del extracto

Las muestras de *Capsicum annuum* (pimiento) fueron lavadas y se quitaron las semillas, utilizando un utensilio de acero. Para purificarlas, se empleó agua potable para eliminar los restos del vegetal, estas semillas se expusieron a temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas. Luego. Posteriormente, las semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) se colocaron en una bandeja de vidrio, estos fueron llevados a una estufa a temperatura de 40°C durante 48 horas, hasta lograr una completa deshidratación. Finalmente, las semillas se molieron para el proceso de maceración durante 5 días. Luego, se filtró la mezcla y se obtuvo el extracto seco (27).

II.5.4. Porcentaje de rendimiento

Para determinar el rendimiento porcentual, se empleó la siguiente fórmula:

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

- %E = Porcentaje de rendimiento
- Pf = Peso final (Extracto seco obtenido)
- Pi = Peso inicial (Muestra molida)

II.5.5. Prueba de solubilidad

Para realizar esta evaluación, se requirió 0,5 g del extracto en su forma deshidratada y 1 mL de los solventes orgánicos, alcohólicos, polares y apolares (28).

II.5.6. Marcha fitoquímica del extracto

Para llevar a cabo el tamizaje fitoquímico preliminar, se aplicó la técnica de Olga Lock. En 14 tubos de ensayo se empleó diferentes reactivos, cada uno conteniendo 1 mL del extracto. Estos reactivos incluyeron Benedict (para Azúcares reductores), NaOH al 10% (para Antocianinas), Gelatina-sal (para Taninos), Gelatina (para Taninos), Cloruro férrico (para Compuestos fenólicos), Fehling A y B (para Azúcares reductores), Wagner (para Alcaloides), Dragendorff (para Alcaloides), Shinoda (para Flavonoides), Baljet (para Lactonas α , β insaturadas), Borntrager (para Quinonas), Liebermann-Burchard (para Triterpenos y esteroides) y Mayer (para Alcaloides). Además, se empleó el índice Afro simétrico para la detección de saponinas (29).

II.5.7. Análisis Microbiológico

Activación de las cepas: *Escherichia coli* ATCC 25922: Para activar las cepas, se siguió el procedimiento utilizando el kit Kwik-stik. Esto implicó presionar la ampolla en la parte superior del recipiente para liberar el líquido hidratante en la base. Posteriormente, la muestra

obtenida se transfirió a una placa y se incubó a 37 °C durante un día completo (24 horas). Para asegurar esto, se creó una mezcla directa de la cepa y se ajustó su densidad óptica según la escala 0.5 de McFarland, que equivale a una concentración de (1.5 x 10⁸ UFC/mL) (30).

Preparación e inoculación de placas: Se preparó una suspensión directa de la colonia obtenida de la placa incubada previamente, usando una solución salina al 0.9% de cloruro de sodio. Se llevó a cabo en recipientes con medio de cultivo Mueller-Hinton, preparado siguiendo las instrucciones del fabricante. La muestra se sembró usando una barra de siembra estéril, utilizando la técnica de trazado en forma de cruz para una distribución homogénea en el medio de cultivo (31).

Preparación de los Pozos: Se utilizó un sacabocado de acero estéril de 6 mm de diámetro para la creación de pozos. Luego, se agregó 20 uL de las sustancias experimentales en diferentes concentraciones, partiendo del extracto seco al cual se añadió (32)

- Grupo extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* al 25 %
- Grupo extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* al 50 %
- Grupo extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* al 75 %
- Grupo control: Ciprofloxacino
- Grupo control: Etanol

Luego, todas las placas fueron cultivadas y mantenidas a 37 °C durante 24 a 48 horas. Los resultados obtenidos se midieron con un calibrador digital y se evaluaron usando la "Escala de Duraffourd" (33).

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

Se procedió a recopilar datos mediante una ficha de observación, la cual fue posteriormente incorporada en la plataforma de documentos en SPSS versión 27. Para el análisis de los datos, se aplicó métodos estadísticos que incluyeron el cálculo de frecuencias relativas, frecuencias absolutas y medidas de tendencia

central. Además, se empleó herramientas estadísticas inferenciales como el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey para llevar a cabo una evaluación detallada de los resultados obtenidos (34).

II.7. Aspectos éticos

El estudio del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) contra *Escherichia coli* plantea consideraciones éticas, respecto al uso adecuado de normas de bioseguridad asimismo las investigadoras declaran no tener algún conflicto de interés (35).

III. RESULTADOS

III.1. Prueba de solubilidad

Tabla 1. Prueba solubilidad de *Capsicum annuum*

TUBO	SOLVENTE	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	-
N° 2	Diclorometano	-
N° 3	Cloroformo	-
N° 4	Butanol	-
N° 5	Etanol 96	+++
N° 6	Etanol 70	++
N° 7	Metanol	+++
N° 8	Agua destilada	-

Se observó la máxima solubilidad (+++) en el solvente Etanol 96 y Metanol; seguido del Etanol 70 con media solubilidad (++) .

III.2. Contrastación de hipótesis general

Hipótesis estadística

H0: El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) no presenta efecto antibacteriano in vitro frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

H1: El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) presenta efecto antibacteriano in vitro frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Se efectuaron estadísticos para evaluar la hipótesis planteada. Los resultados indicaron que los valores obtenidos en cada grupo de estudio se encontraban dentro de los límites establecidos, respaldando así la validez de la hipótesis en la investigación. De igual manera en la tabla 2 se evidencia los resultados de los halos de inhibición del análisis microbiológico.

Tabla 2. Mediciones de los halos de inhibición del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annum* sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	Etanol	25%	50%	75%	Ciprofloxacino 5ug
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	6	6	6	7.33	36.90
	6	6	6	7.37	36.98
	6	6	6	7.32	36.95
	6	6	6	7.34	36.89
	6	6	6	7.32	36.91
	6	6	6	7.35	36.98
	6	6	6	7.37	36.99
	6	6	6	7.33	36.96
	6	6	6	7.38	36.96
	6	6	6	7.39	36.98
Media	6	6	6	7.35	36.95

Tabla 3. Análisis descriptivos

95% de intervalo de confianza para la media						
		N	Media	Desviación estándar	Límite inferior	Límite superior
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Etanol	10	6,0000	0,00000	6,0000	6,0000
	Ext. 25%	10	6,0000	0,00000	6,0000	6,0000
	Ext. 50%	10	6,0000	0,00000	6,0000	6,0000
	Ext. 75%	10	7,3500	0,02582	7,3315	7,3685
	Ciprofloxacino 5ug	10	36,9500	0,03682	36,9237	36,9763

Se pudo observar que para *Escherichia coli*, el etanol no presentó actividad antibacteriana, con una media de 6.00 y una desviación estándar de 0.00000, que corresponde al diámetro del pozo de 6.00 mm. Al emplear la escala de Duraffourd, se evidenció que las concentraciones del extracto etanólico de pimiento al 25%, 50% y 75% evidenciaron nula sensibilidad antibacteriana con una media de (6,0000; 6,0000 y 7,3500 mm) respectivamente. Por otro lado, la cepa se mostró sumamente sensible frente al control ciprofloxacino 5ug con una media de 36,9500.

Decisión: Por consiguiente, no se rechaza la hipótesis nula H0.

III.3. Contrastación de hipótesis específicas

a) Hipótesis Específica N° 01

H0: El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) no posee metabolitos secundarios.

H1: El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) posee metabolitos secundarios

Tabla 4. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento)

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	-
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	-
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	+++
N° 5	Mayer	Alcaloides	+
N° 6	Wagner	Alcaloides	+
N° 7	Baljet	Lactonas α , β -insaturadas	+
N° 8	Gelatina	Taninos	+++
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	+
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	-
N° 11	Benedict	Azúcares reductores	++
N° 12	Fehling A y B	Azúcares reductores	+
N° 13	Espuma	Saponinas	-
N° 14	Shinoda	Flavonoides	-

Se llevó a cabo el análisis fitoquímico siguiendo el protocolo establecido por Olga Lock para comprobar la hipótesis. Mediante esta metodología, se evaluó la presencia de diversos compuestos secundarios en el extracto de etanol derivado de las semillas de pimiento. Se observó la presencia de alcaloides y taninos (+++), seguido de azúcares reductores (++) . Además se observó compuestos fenólicos y lactonas α , β -insaturadas (+).

Decisión: Por consiguiente, se rechaza la hipótesis nula.

b) Hipótesis Específica N° 02

H0: El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) no tiene efecto antibacteriano in vitro a concentraciones del 25%, 50% y 75% frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

H1: El extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) tiene efecto antibacteriano in vitro a concentraciones del 25%, 50% y 75% frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabla 5. Pruebas de ANOVA de los halos obtenidos frente *Escherichia coli* ATCC 25922

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Entre grupos	7510,670	4	1877,667	4642584,478	0,000
	Dentro de grupos	0,018	45	0,000		
	Total	7510,688	49			

Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la presencia de diferencias entre los tratamientos mediante la comparación de sus valores medios. Se detectó un $p < 0.05$ (significativo), lo que demuestra la existencia de diferencias entre los grupos en estudio. Con el propósito de identificar las diferencias significativas entre los distintos medios, se llevó a cabo un análisis POST HOC utilizando el procedimiento de Tukey.

Tabla 6. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición de *Escherichia coli* ATCC 25922

Comparaciones múltiples						
(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Ciprofloxacino 5ug	Etanol	30,95000*	0,00899	0,000	30,9244	30,9756
	25 %	30,95000*	0,00899	0,000	30,9244	30,9756
	50 %	30,95000*	0,00899	0,000	30,9244	30,9756
	75 %	29,60000*	0,00899	0,000	29,5744	29,6256
Etanol	Ciprofloxacino 5ug	-30,95000*	0,00899	0,000	-30,9756	-30,9244
	25 %	0,00000	0,00899	1,000	-,0256	0,0256
	50 %	0,00000	0,00899	1,000	-,0256	0,0256
	75 %	-1,35000*	0,00899	0,000	-1,3756	-1,3244

Se pudo observar que $p < 0.05$ en comparaciones entre el Ciprofloxacino 5ug y los grupos experimentales al 25%, 50% y 75%, el cual manifiesta que el Ciprofloxacino 5ug muestra un efecto inhibitorio significativamente mayor que los experimentales en todas las concentraciones frente *Escherichia coli* ATCC 25922.

Por otro lado, se observa que $p > 0.05$ entre Etanol y los grupos experimentales al 25%, 50% los cuales muestran que no existen diferencias entre los conjuntos. Por otra parte, la concentración al 75% evidenció $p < 0.05$ en comparación con el etanol, esto manifestó que existen diferencias estadísticas.

Decisión: Por consiguiente, no se rechaza la hipótesis nula H_0 .

c) Hipótesis Específica N° 03

H0: El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) no es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5 µg frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

H1: El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) es significativamente mayor comparado con ciprofloxacino 5 µg frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tabla 7. Prueba de subconjuntos de Tukey para *Escherichia coli* ATCC 25922

HSD Tukey ^a				
Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Etanol	10	6,0000		
25 %	10	6,0000		
50 %	10	6,0000		
75 %	10		7,3500	
Ciprofloxacino 5ug	10			36,9500
Sig.		1,000	1,000	1,000

Se evidencia que los promedios de los tamaños de la zona de inhibición a distintas concentraciones del extracto etanólico de las semillas de pimiento son menores contra ciprofloxacino 5ug. Esto indica que el agente antibacteriano utilizado como referencia positiva presenta una media de inhibición más amplia (36,9500 mm).

Decisión: Por consiguiente, no se rechaza la hipótesis nula (H0).

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de resultados

El aumento de la resistencia a los tratamientos de *Escherichia coli* presenta un desafío urgente en el ámbito de la medicina. Frecuentemente relacionada con infecciones del sistema urinario y del aparato digestivo, ha adquirido una inquietante inmunidad a los fármacos usados para tratar estos padecimientos. La inmunidad de *E. coli* a los medicamentos es una cuestión esencial que precisa acciones inmediatas para salvaguardar la eficacia de los antimicrobianos y asegurar la protección de los pacientes.

En relación con el objetivo general, se identificó que el extracto etanólico de *Capsicum annum* (pimiento) no presentó efecto antibacteriano en todas las concentraciones del 25%, 50% y 75% frente *Escherichia coli* con nula sensibilidad de (6,00; 6,00 y 7,35 mm). Guardando similitud en los resultados con **Elliott, J (2019)** quien al evaluar el efecto bactericida de la oleorresina obtenida del fruto de *Capsicum pubescens* frente a *E coli*, obtuvo que la concentración del 125 mg/ml, manifestó halos de 9.9 mm, no obstante estos no presentaron efecto antimicrobiano frente la cepa (18). Esto puede ser atribuida a variaciones en la composición química, concentraciones exactas, y la especificidad de la cepa de *Escherichia coli* utilizada. Mientras que en el caso de la oleorresina, es posible que contuviera compuestos más efectivos para la cepa específica analizada. Por otro lado, difiere con el estudio de **Das, J et al. (2018)** quienes el evaluar el efecto bactericida de *Capsicum chinense* frente *Escherichia coli*. obtuvo que los extractos del 25%, 50% y 75% expresaron zonas de inhibición frente la cepa con (10, 11 y 17 mm) respectivamente (16). Las diferencias en los resultados se asocian con la variabilidad en la especie de *Capsicum*, condiciones geográficas, cepas bacterianas y concentraciones de los extractos. Las diferencias geográficas pueden influir en la composición química de los pimientos y, por ende, en su efectividad antibacteriana.

En relación con el objetivo específico 1, en el tamizaje fitoquímico se identificó alcaloides, taninos, azúcares reductores, compuestos fenólicos y lactonas α , β -insaturadas. Guardando similitud en los resultados con **Yáñez et al. (2015)** quienes

al evaluar el tamizaje fitoquímico de *Capsicum chinense*, encontraron respuesta positiva de alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, azúcares reductores y saponinas. (36). Esto se debe a la relación taxonómica y evolutiva entre las plantas de la familia *Capsicum*. Estos compuestos son productos de las vías metabólicas y funciones biológicas compartidas dentro de esta familia botánica, lo que lleva a su detección en diferentes especies de *Capsicum*, incluyendo el pimiento y el *Capsicum chinense*.

Conforme al objetivo específico 2, se identificó que el extracto etanólico de semillas de pimiento no tiene efecto antibacteriano en concentraciones del 25%, 50% y 75% sobre *Escherichia coli* ATCC 25922. Resultados que difieren con el estudio de **Chibueze, S et al. (2019)**, quienes al evaluar las propiedades antibacterianas de los extractos etanólicos de *Capsicum frutescens* var, obtuvieron que el extracto etanólico evidenció una zona de inhibición de 14.33 ± 0.58 mm frente *E. Coli*, además la bacteria presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los extractos crudos y etanólicos (17). Esto podría explicarse por las variaciones en la composición química, especie de pimiento, método de extracción y sensibilidad bacteriana utilizados en cada estudio, lo que influyó en la capacidad de los extractos para inhibir el crecimiento bacteriano. Así mismo difiere con el estudio de **Rios, E (2019)**, quienes al analizar la eficacia bactericida del rocoto comparado con el extracto de capsaicina sobre una bacteria ATCC, obtuvo que el extracto de capsaicina al 25% presentó mayor efecto antibacteriano del 100% frente al rocoto al 25% (19). Esto puede atribuirse a las variaciones en la especificidad de los compuestos bioactivos presentes en los extractos de pimiento, a la sensibilidad diferencial de la cepa bacteriana evaluada, así como a las diferencias en las concentraciones y las condiciones experimentales aplicadas en cada estudio.

Conforme al objetivo específico 3, se evidenció que los promedios de los diámetros de la zona de inhibición a distintas concentraciones del extracto etanólico de pimiento frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron menores en comparación a los logrados por el ciprofloxacino 5ug. El cual presentó un diámetro de inhibición mayor con (36,9500 mm). Corroborando con el estudio de **Alva, I (2018)**, quienes al evaluar la acción bactericida de *Capsicum chinense* frente *Escherichia coli*, obtuvo que la concentración del 100% mostró una zona de inhibición de 8.87 mm, sin embargo, no superó al control positivo Imipenem 10 µg, el cual presentó un halo

de 35.93 mm, siendo el que presentó mayor efecto bactericida. (20). La diferencia en la efectividad de los controles positivos se debe a que los medicamentos, ciprofloxacino e Imipenem, son agentes antibacterianos estandarizados y probados, a diferencia de que los extractos de pimiento, a pesar de relacionarse con propiedades antimicrobianas, no presentaron actividad antibacteriana.

La falta de efecto antibacteriano in vitro observada en el extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 a concentraciones de 25%, 50% y 75% podría atribuirse a varias razones debido a que la sensibilidad de *Escherichia coli* a los compuestos presentes en el extracto podría no ser suficientemente alta en estas concentraciones, lo que indica que se requieren concentraciones más altas para inhibir el crecimiento bacteriano. Además, la naturaleza del método de difusión en agar en pozo podría no ser el más adecuado para evaluar la actividad antibacteriana de este extracto, ya que ciertos compuestos pueden no difundirse eficazmente a través del agar y, por lo tanto, no llegar a las bacterias. También es importante considerar la posible presencia de otros componentes en el extracto que podrían interferir con la actividad antibacteriana o incluso promover el crecimiento bacteriano. Por lo tanto, estos resultados sugieren la necesidad de explorar otras concentraciones y métodos de evaluación, así como la identificación de los compuestos activos en el extracto que podrían ser responsables de la actividad antibacteriana.

IV.2. Conclusiones

- Se concluye que el extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) no presentó efecto antibacteriano in vitro frente cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Los análisis fitoquímicos desarrollados demuestran la presencia de alcaloides, taninos, azúcares reductores, compuestos fenólicos y lactonas α , β -insaturadas.
- Todas las concentraciones del (25%, 50% y 75%) del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) no presentaron efecto antibacteriano frente *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Se concluye que las medias de los diámetros en concentraciones del (25%, 50% y 75%) del extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (pimiento) frente *Escherichia coli* ATCC 25922 fueron inferiores a los obtenidos por el control positivo ciprofloxacino 5ug (36,9500 mm).

IV.3. Recomendaciones

- Dado que el estudio no presentó actividad antibacteriana en las concentraciones del 25%, 50%, y 75%, se recomienda explorar y analizar rangos de concentración más amplios para determinar si existe una concentración efectiva en la que el extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* pueda mostrar actividad antibacteriana. Esto podría implicar realizar pruebas con concentraciones más altas.
- Se sugiere llevar a cabo una investigación más detallada para identificar los compuestos específicos presentes en el extracto etanólico de las semillas de *Capsicum annuum*. Esto podría ayudar a determinar si algún componente en particular contribuye o inhibe la actividad antibacteriana.
- Sería beneficioso llevar a cabo investigaciones adicionales para comprender los posibles mecanismos de acción que subyacen a la actividad antibacteriana de este extracto. Esto podría proporcionar información valiosa sobre cómo interactúa con las cepas de *Escherichia coli* ATCC 25922 y, por lo tanto, mejorar nuestra comprensión de su potencial uso en la terapia antibacteriana.
- Se recomienda ampliar las pruebas antibacterianas para incluir otras cepas de bacterias, además de *Escherichia coli* ATCC 25922. Esto permitiría evaluar si el extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* tiene un espectro de actividad más amplio o si su efectividad es específica para ciertas cepas bacterianas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Un informe pone de relieve el aumento de la resistencia a los antibióticos en infecciones bacterianas que afectan al ser humano y la necesidad de mejorar los datos al respecto [Internet]. Organización Panamericana de la Salud. 2022. Available from: <https://www.paho.org/es/noticias/9-12-2022-informe-pone-relieve-aumento-resistencia-antibioticos-infecciones-bacterianas#:~:text=A modo de ejemplo%2C cabe,%25 y de un 35%25>.
2. Jubinville M. Infección bacteriana gramnegativa. Western New York Urology Associates [Internet]. 2023; Available from: <https://www.wnyurology.com/content.aspx?chunkid=943472#>
3. OMS. La OMS intensifica sus esfuerzos para mejorar la salubridad de los alimentos y proteger a la población de las enfermedades [Internet]. Organización mundial de la salud. 2021. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/07-06-2021-who-steps-up-action-to-improve-food-safety-and-protect-people-from-disease>
4. Khalil I, Troeger C, Blacker B, Rao P, Brown A, Atherly D, et al. Morbidity and mortality due to shigella and enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea: the Global Burden of Disease Study 1990–2016. *Lancet Infect Dis* [Internet]. 2018;18(11):1229–40. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30266330/>
5. Bezabih Y, Sabiiti W, Alamneh E, Bezabih A, Peterson G, Bezabhe W, et al. The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2021;76(1):22–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33305801/>
6. Alqasim A, Abu Jaffal A, Alyousef A. Prevalence of multidrug resistance and extended-spectrum β -Lactamase carriage of clinical uropathogenic *Escherichia coli* isolates in Riyadh, Saudi Arabia. *Int J Microbiol* [Internet]. 2018;1–9. Available from:

<https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2018/3026851/>

7. Borujerdi S, Ardakani M, Rezatofghi S. Characterization of diarrheogenic escherichia coli strains associated with diarrhea in children, Khouzestan, Iran. *J Infect Dev Ctries* [Internet]. 2018;12(8):649–56. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31958328/>
8. Margulieux K, Srijan A, Ruekit S, Nobthai P, Poramathikul K, Pandey P, et al. Extended-spectrum β -lactamase prevalence and virulence factor characterization of enterotoxigenic Escherichia coli responsible for acute diarrhea in Nepal from 2001 to 2016. *Antimicrob Resist Infect Control* [Internet]. 2018;7(87):1–7. Available from: <https://aricjournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13756-018-0377-2#citeas>
9. Getaneh D, Hordofa L, Ayana D, Tessema T, Regassa L. Prevalence of Escherichia coli O157:H7 and associated factors in under-five children in Eastern Ethiopia. *PLoS One* [Internet]. 2021;16(1):1–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33508023/#:~:text=Conclusion%3A The Prevalence of E,and hygiene in a household.>
10. Cho S, Hiott L, Barrett J, McMillan E, House S, Humayoun S, et al. Prevalence and characterization of Escherichia coli isolated from the upper oconee watershed in Northeast Georgia. *PLoS One* [Internet]. 2018;13(5):1–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29738574/>
11. Pakbin B, Brück W, Rossen J. Virulence Factors of Enteric Pathogenic Escherichia coli: A Review. *Int J Mol Sci*. 2021;18(1):1–10.
12. OMS. PANAFTOSA advierte que las enfermedades transmitidas por alimentos pueden ser evitadas con acciones preventivas desde el campo a la mesa [Internet]. Organización Panamericana de la Salud. 2022. Available from: <https://www.paho.org/es/noticias/7-6-2022-panaftosa-advierte-que-enfermedades-transmitidas-por-alimentos-pueden-ser#:~:text=La OMS estima que cada,la economía y al comercio.>
13. Pimiento Capsicum annum [Internet]. Infojardin. 2022. Available from:

<https://articulos.infojardin.com/huerto/Fichas/pimiento.htm>

14. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. La E. coli y la seguridad de los alimentos [Internet]. Seguridad de los alimentos. 2022 [cited 2023 Aug 19]. Available from: <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/ecoli-and-food-safety.html#:~:text=agua sin tratar.-,La mayoría de los tipos de E. coli son inofensivos,e infecciones del torrente sanguíneo>.
15. Aldayel M. The synergistic effect of capsicum aqueous extract (*Capsicum annum*) and chitosan against multidrug-resistant bacteria. *J King Saud Univ - Sci.* 2023;35(2):102438.
16. Das J, Deka M, Gogoi K. Antimicrobial Activity of Chilli Extracts (*Capsicum chinense*) Against Food Borne Pathogens *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Int J Res Anal Rev* [Internet]. 2018;5(4):717–20. Available from: www.ijrar.org
17. Chibueze S, Godwin N, Ilerhunmwuwa A, Sila G. Evaluation of crude and ethanolic extracts of *Capsicum frutescens* var. *minima* fruit against some common bacterial pathogens. *Int J Complement Altern Med.* 2019;12(3):105–8.
18. Elliott J. Efecto antimicrobiano del *Capsicum pubescens* sobre *Escherichia coli* comparado con Amoxicilina/Ácido clavulánico, estudio in vitro. [Universidad César Vallejo]; 2019.
19. Rios E. Eficacia antibacteriana in vitro entre rocoto (*Capsicum pubescens*) en comparación con el extracto de capsaicina sobre cepas de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 causante de enfermedad periodontal Cusco - Perú 2019. [Universidad Andina del Cusco]; 2019.
20. Alva I. Efecto Antibacteriano Del Extracto Etanólico De *Capsicum Chinense* (Ají Panca) Sobre *Escherichia Coli* Uropatógena. [Universidad privada Antenor Orrego]; 2018.
21. Hernandez R, Mendoza C. Metodología de la Investigación. Ciudad de México: Mc Graw Hill; 2018. 714 p.

22. Baena G. Metodología de la Investigación. 3 ed. Grupo Editorial Patria; 2017. 141 p.
23. Hernández, R. Fernández, C. y Baptista P. Metodología de la investigación. 5th ed. Buenos aires: McGraw-Hill; 2010.
24. Cegarra J. Metodología de la investigación científica y tecnológica. 1st ed. Madrid: Diaz de Santos; 2004. 372 p.
25. Ruiz L, et al. Presencia de Enterobacteriaceae y Escherichia coli multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35(3).
26. Palacios M, Coila R. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de Opuntia soehrensii Britton & Rose (Ayrampo) frente a cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175 [Internet]. [cited 2023 Agost 27];[Universidad Maria Auxiliadora]; 2023. Available from: [https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1498/TESIS COILA-PALACIOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12970/1498/TESIS_COILA-PALACIOS.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
27. Castro E. Bioestadística aplicada en investigación clínica: conceptos básicos. REV MED CLIN CONDES [Internet]. 2019;30(1):1–10. Available from: doi: 10.1016/j.rmclc.2018.12.002
28. Sreepian A et al. Antibacterial activity of essential oil extracted from Citrus hystrix (Kaffir Lime) peels: An in vitro study. Trop Biomed [Internet]. 2019;36(2):531–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33597415/>
29. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad catolica del Perú; 2016. 287 p.
30. Microbiologics. Kwik Stik Instructions for Use [Internet]. Microbiologics. 2018. p. 1–6. Available from: https://www.microbiologics.com/core/media/media.nl?id=516&c=915960&h=be1fe2eebf3be3ec26d4&_xt=.pdf
31. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de

- sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lecca Garc. Lima: Ministerio de salud; 2002. 1–67 p.
32. Montero M, Vayas L, Aviles D, Pazmiño P, Erazo V. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Rev Inv Vet Perú*. 2018;29(4):1543–7.
 33. Castillejo E, Trujillo C. Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso de semillas de “*Lupinus mutabilis* Sweet” (Chocho) frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739 [Internet]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2020. Available from: <http://repositorio.uigv.edu.pe/handle/20.500.11818/5595>
 34. Triola M. Estadística. 12th ed. Mexico D.F.: Pearson Educación; 2018. 788 p.
 35. Oficina ejecutiva de investigación. Manual de procedimientos de ensayos clínicos. N° 279-2017-J-OPE/INS Perú: Ministerio de salud; 2017 p. 118.
 36. Yáñez P, Balseca D, Rivadeneira L, Larenas C. Características morfológicas y de concentración de capsaicina en cinco especies nativas del género *Capsicum* cultivadas en Ecuador. Universidad Politécnica SALESIANA ECUADOR; 2015.

ANEXOS

ANEXO A. Operacionalización de la variable o variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Extracto etanólico de semillas de <i>Capsicum annuum</i> (pimiento)</p>	Fitoquímica	Marcha fitoquímica	Ordinal	13	<p>(-) Ausente (+) Mínimo (++) Mediano (+++) Abundante</p>
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Efecto antibacteriano in vitro frente cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922</p>	<p>Microbiológico</p> <p>(Método de difusión en agar)</p>	Medición de diámetro inhibición (mm)	Razón	10	<p>ESCALA DE DURAFFOURD</p> <p><8 mm: nulo (-) 8 – 14 mm: Sensibilidad baja (+) 14 – 20 mm: Sensibilidad media (++) >20 mm: Sumamente sensible (+++)</p>

ANEXO B. Instrumentos de recolección de datos

Tabla 8. Ensayo microbiológico

N°	Frente a <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				
	Etanol	ciprofloxacino 5 µg	Ext 25 %	Ext 50 %	Ext 75 %
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Tabla 9. Marcha fitoquímica del extracto etanólico

IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS		
Metabolitos secundarios	Reactivos	Resultado
Quinonas	Borntrager	
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	
Flavonoides	Shinoda	
Antocianinas	NaOH 10%	
Taninos	Gelatina	
Taninos	Gelatina Sal	
Alcaloides	Dragendorff	
Alcaloides	Wagner	
Alcaloides	Mayer	
Triterpenos y Esteroides	Liebermann Burchard	
Lactonas α , β insaturadas	Baljet	
Saponinas	Espuma	

Leyenda:

- (-) Ausente
- (+) Mínimo
- (++) Mediano
- (+++) Abundante

Tabla 10. Ensayo de Solubilidad

TUBO	SOLVENTES	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	
N° 2	Diclorometano	
N° 3	Cloroformo	
N° 4	Butanol	
N° 5	Etanol de 70°	
N° 6	Metanol	
N° 7	Agua destilada	
N° 8	Dimetilsulfóxido	

Leyenda:

Insoluble: (-)

Poco soluble: (+)

Medianamente soluble: (++)

Muy soluble: (+++)

ANEXO C. Certificado Taxonómico

José R. Campos de la Cruz
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. 3796
Cel: 963689079
Email: jocamde@gmail.com



CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO. CBP 3796 – INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES DE IDENTIFICACION TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA – RESOLUCIÓN DIRECTORAL Nº 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, los Bachilleres CAYETANO COLAN ELIZABETH DEL PILAR y CUEVA FUENTES FIORELA, tesis de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación para desarrollar el proyecto de tesis titulado: EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Capsicum annuum* (PIMIENTO) FRENTE CEPAS DE *Escherichia coli* ATCC 25922, han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente del departamento de Lima, provincia de Canta, distrito de Santa Rosa, Parcela Zapan Km.47, donde es cultivada con el nombre vulgar de "pimiento", la muestra ha sido identificada como *Capsicum annuum* L. Según la base de datos W³Tropicos del Missouri Botanical Garden, que siguen el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009), actualizado por APG IV (2016), el sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. Chase & Reveal en APG III (2009) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de W³Tropicos, APG III y APG IV, para la especie identificada se adapta las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae
División: Angiospermas
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Asteranae
Orden: Solanales
Familia: Solanaceae
Género: *Capsicum*
Especie: *Capsicum annuum* L.

Nombre vulgar: Pimiento

Se expide la presente certificación para fines de investigación científica.

Lima, 24 de octubre del 2023



Jr. Sánchez Silva 156 – Piso 2 – Urb. Santa Luzmila – Lima 07 -Lima

ANEXO D. Informe de análisis de laboratorio



"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

Informe de Resultados

Solicitado por: Cayetano Colan Elizabeth Del Pilar
Cueva Fuentes Fiorela
Muestra: Extracto etanólico de semillas de *Capsicum annuum* (PIMIENTO)
Fecha de ensayo: 15-10-2023

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	50%	25%	Ciprofloxacino Sug	Etanol
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7.33	6	6	36.90	6
	7.37	6	6	36.98	6
	7.32	6	6	36.95	6
	7.34	6	6	36.89	6
	7.32	6	6	36.91	6
	7.35	6	6	36.98	6
	7.37	6	6	36.99	6
	7.33	6	6	36.96	6
	7.38	6	6	36.96	6
	7.39	6	6	36.98	6

*Tamaño de pozo: 6mm, por lo que al reportarse 6 mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

*Concentración del inóculo: 1.5×10^8 UFC/mL

Lic. T.M. Walter A. Siri Rodríguez

CTMP. 10808

ANEXO E. Certificado de Agar Mueller Hinton



CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g

LOT NUMBER 3681362

EXPIRY DATE 2028.06.05

DATE OF MANUFACTURE 2023.06.07

Delivery/ Customer information
Date Printed 2023.06.30
Delivery No.
Customer Customer Order Number

Physical Characteristics	Results	Specification
Appearance	Straw powder	Straw powder
Colour on reconstitution	Straw 2-3	Straw 2-3
pH (25°C)	7.3	7.2 - 7.4
Clarity	Clear	Clear

Microbiological Performance

Antibiotic susceptibility tests are performed in accordance with, and meet the acceptance limits of, the current ISO/TS 16782. Performance is assessed using EUCAST methodology.

Staphylococcus aureus ATCC®25923 WDCM00034
 Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Erythromycin E15	29	22 - 30
Tetracycline TE30	27	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	26	22 - 30
Amoxicillin-clavulanate AMC30	34	28 - 36
Ampicillin-sulbactam SAM20	35	29 - 37
Linezolid LZD30	25	25 - 32
Cefoxitin FOX30	29	23 - 29
Gentamicin CN10	26	19 - 27
Penicillin P10	35	26 - 37

Staphylococcus aureus ATCC®29213 WDCM00131
 Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Penicillin P1	15	12 - 18
Cefoxitin FOX30	28	24 - 30
Ciprofloxacin CIP5	22	21 - 27
Erythromycin E15	25	23 - 29
Gentamicin CN10	22	19 - 25
Linezolid LZD10	22	21 - 27
Tetracycline TE30	26	23 - 31



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
 Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
 oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

PRODUCT CM0337B
MUELLER HINTON AGAR 500g
LOT NUMBER 3681362

Staphylococcus aureus ATCC®43300 WDCM00211
Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Cefoxitin FOX30	11	<21

Staphylococcus aureus NCTC12493 WDCM00212
Incubation at 35 ± 1°C for 24 hours in ambient air

Cefoxitin FOX30	20	14 - 20
-----------------	----	---------

Escherichia coli ATCC®25922 WDCM00013

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Ampicillin AMP10	16	15 - 22
Chloramphenicol C30	24	21 - 27
Gentamicin CN10	20	19 - 26
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	29	23 - 29
Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	18 - 24
Ciprofloxacin CIP5	33	30 - 40
Sulfisoxazole SF300	21	15 - 23
Tetracycline TE30	22	18 - 25
Cefotaxime CTX5	28	25 - 31
Tigecycline TGC15	22	20 - 27

Escherichia coli ATCC®35218

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Amoxicillin-clavulanate AMC30	20	17 - 22
-------------------------------	----	---------

Pseudomonas aeruginosa ATCC®27853 WDCM00025

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Gentamicin CN10	19	16 - 21
Imipenem IPM10	22	20 - 28
Aztreonam ATM30	24	23 - 29
Ciprofloxacin CIP5	25	25 - 33
Tobramycin TOB10	23	19 - 25
Ceftazidime CAZ10	24	21 - 27
Piperacillin-tazobactam TZP36	25	23 - 29

Enterococcus faecalis ATCC®33186 WDCM00210

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	25	20 -
-------------------------------------	----	------

Enterococcus faecalis ATCC®29212 WDCM00087

Incubation at 35 ± 1°C for 16-20 hours in ambient air

Ampicillin AMP2	18	15 - 21
Imipenem IPM10	26	24 - 30
Linezolid LZD10	22	19 - 25
Nitrofurantoin F100	22	18 - 24



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED

Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
 oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

FDA Reg No. 8010396

**CERTIFICATE OF ANALYSIS**

PRODUCT CM0337B
LOT NUMBER 3681362
MUELLER HINTON AGAR 500g

Trimethoprim W5	30	24 - 32
Trimethoprim-sulfamethoxazole SXT25	31	26 - 34
Vancomycin VA5	13	10 - 16

Streptococcus pneumoniae ATCC®49619
 Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
 Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO2

	Zone Size (mm)	Limits (mm)
Vancomycin VA5	21	<23

Haemophilus influenzae ATCC®49247
 Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
 Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO2

Ampicillin AMP2	10	6 - 12
-----------------	----	--------

Haemophilus influenzae ATCC®49766
 Enriched with 5% v/v horse blood and 20mg/L B-NAD
 Incubation at 35 ± 1°C for 18-20 hours in 5% CO2

Cefixime CFM5	31	29 - 35
---------------	----	---------

Control Medium: Mueller-Hinton Agar

Refer to product specification for full details.

The information given is believed to be correct, all results reported in this certificate relate only to the product and lot stated in this certificate of analysis. However, both the information and the product are offered without warranty for any application other than that specified in the current Oxoid Manual. This certificate shall not be reproduced except in full, without written approval of the Quality Control Laboratory, Oxoid Limited, Basingstoke. The results reported were obtained at the time of release.
 Lot Accepted: 2023.06.16

Carissa Courtney
 Director Quality, EMEA

ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection.
 NCTC and National Collection of Type Cultures are registered trade marks of the Health Protection Agency.



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
 Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
 oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

Certificate No. FM 00014

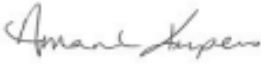



FDA Reg No. 8010396

ANEXO F. Certificado de análisis de Cepa *Escherichia coli* ATCC 25922



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>SPECIFICATIONS: Product Name: Escherichia coli Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-550** Reference Number: ATCC® 25922™* Passage from Reference: 2 Expiration Date: 2024/08/31</p>	<p>RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Jacob A Lohman Release Date: 2022/09/23</p>
---	--

Performance	
<p>Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic: one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough</p> <p>Microscopic Features: Gram negative straight rod</p>	<p>Medium: SBAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1)</p>	
<p>See attached ID System results document.</p>	
<p>Other Features/ Challenges: Results</p> <p>(1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p> <div style="text-align: right;">  Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE </div>	
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p>	
<p><u>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</u></p>	
<p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p>	
 TESTING CERT #2655.01	<p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p>
  REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT # 2655.02	<p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p>

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 highconfidence 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 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.

Run Creation Date/Time: 2022-09-19T09:16:39.647 JAL

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A3 (+++) (A)	335-550	Escherichia coli	2.27

Comments:

closely related to Shigella / Escherichia fergusonii and not definitely distinguishable at the moment

ANEXO G. Evidencias fotográficas



Figura 1. Recolección de la muestra *Capsicum annuum* (pimiento)



Figura 2. Muestra de tipo *Capsicum annuum* (pimiento)



Figura 4. Lavado de la muestra



Figura 3. Lavado de semillas



Figura 5. Procedimiento de secado de la muestra



Figura 6. Procedimiento de molienda de la muestra



Figura 7. Preparación del macerado del extracto etanólico



Figura 8. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico

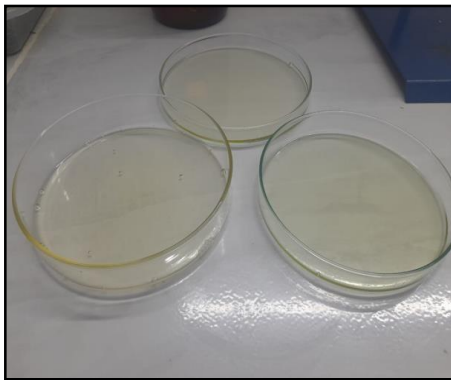


Figura 9. Proceso de vertido en placas

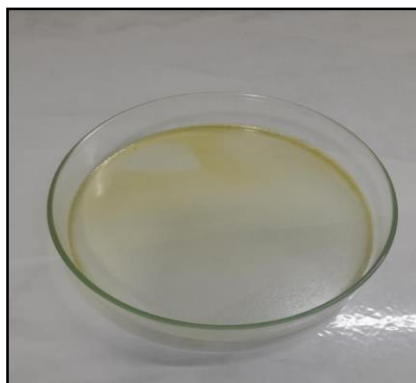


Figura 10. Obtención de extracto seco

PRUEBA DE SOLUBILIDAD

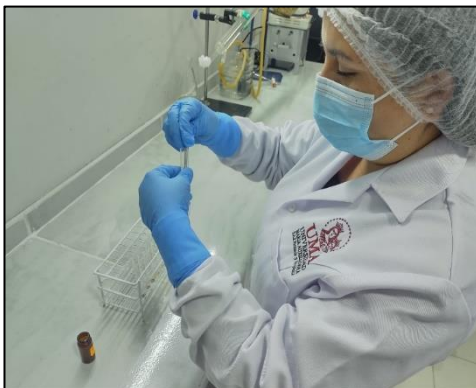


Figura 11. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad

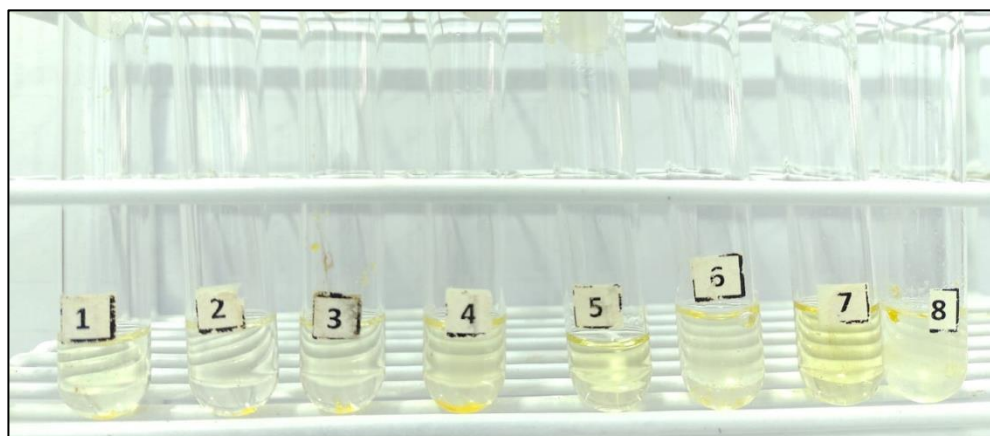


Figura 12. Resultado de prueba de solubilidad

MARCHA FITOQUÍMICA



Figura 13. Adición de extracto a los tubos de ensayo

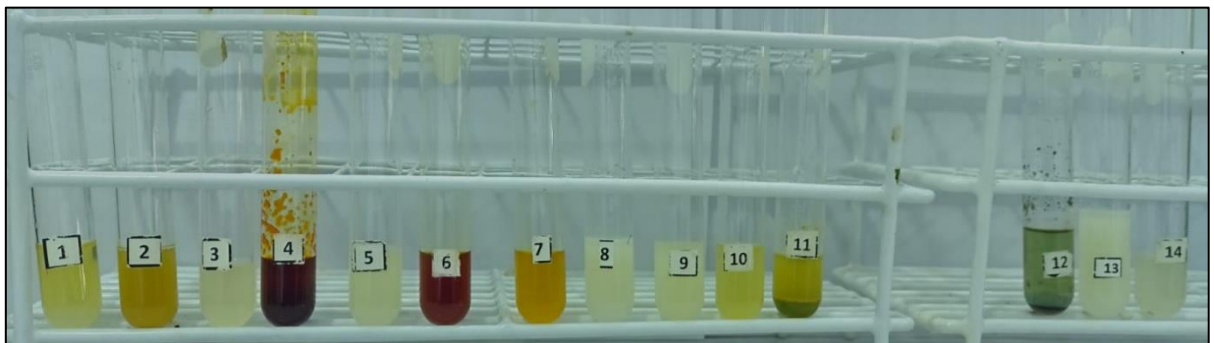


Figura 14. Resultado de la marcha fitoquímica

ENSAYO MICROBIOLÓGICO



Figura 15. Pesando del Agar



Figura 16. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica



Figura 17. Agar Mueller Hinton

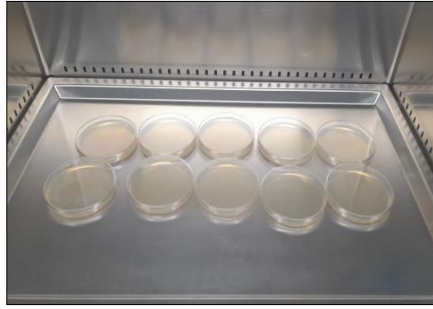


Figura 18. Placas preparadas

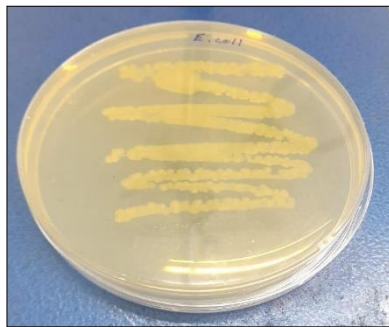


Figura 19. Cepa biológica de tipo: *Escherichia coli* ATCC 25922

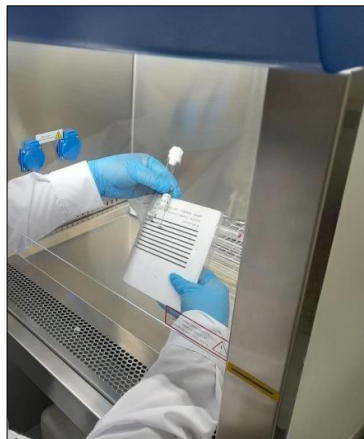


Figura 20. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mc. Farland

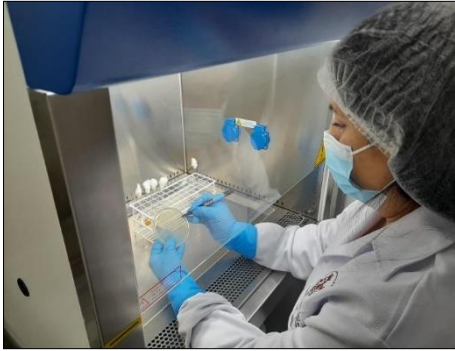


Figura 21. Rotulado de placas



Figura 22. Sembrado de la cepa biológicas en las placas



Figura 23. Efectuando pozos en agar con ayuda de un sacabocado



Figura 24. Preparación del extracto de semillas de *Capsicum annuum*

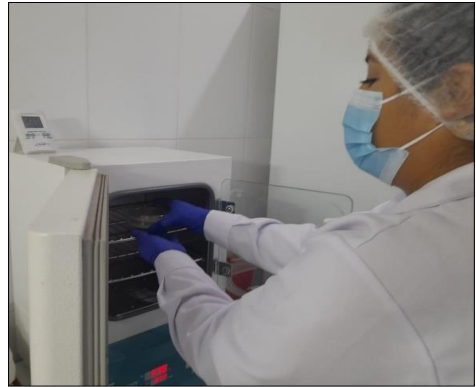


Figura 25. Incubación de placas



Figura 26. Lectura de resultados

ANEXO H. Porcentaje de rendimiento

Determinación del porcentaje de rendimiento

Tenemos la cantidad de producto obtenido en la extracción química.

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Dónde: %E = porcentaje de rendimiento

Pf = peso final (extracto seco)

Pi = peso inicial (muestra molida)

Fuente : Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda

<http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v48n1/0034-7418-rccqf-48-01-94.pdf>

Extracción por maceración

$$\%E = \frac{4.5 \text{ g}}{135.5 \text{ g}} \times 100 = 3.3 \%$$

Pf= 4.5 gr extracto seco obtenido

Pi = 135.5 gr. Muestra molida

ANEXO I. Constancia de recolección de la muestra

CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Yo, Oscar Orellana Lozano..... con DNI: 09.356395..... en
calidad de responsable de la Parcela Zapen Km 47..... ubicado en el
distrito de Santa Rosa....., provincia Canta..... y departamento
de Lima.....

Autorizo a los estudiantes de la **Universidad María Auxiliadora**, de la Escuela Profesional de FARMACIA Y BIOQUÍMICA, Bach. **CAYETANO COLAN ELIZABETH DEL PILAR** y Bach. **CUEVA FUENTES FIORELA**, con título de proyecto de investigación, "EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Capsicum annum* (PIMIENTO) FRENTE CEPAS DE *Escherichia coli* ATCC 25922", para que puedan recolectar la muestra correspondiente.

12 de setiembre del 2023



Firma