



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

**“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Vitis vinífera* (UVA)  
SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO

**AUTORES:**

**Bach. GONZALES RAMIREZ, JANET PILAR**  
<https://orcid.org/0009-0008-1637-1013>

**Bach. VALLADARES VARGAS, LUCIA**  
<https://orcid.org/0009-0007-6169-878X>

**ASESOR:**

**Mg. TOVAR TICSE, ROSMERY DIONICIA**  
<https://orcid.org/0000-0001-9520-5372>

Lima – Perú

2023

## DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, **Janet Pilar Gonzales Ramirez**, con DNI **41048753** en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título **“EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE Vitis vinífera (UVA ) SOBRE Streptococcus mutans ATCC 25175”**, **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 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, 7, de febrero 2024.



(Nombre y Firma)

Firma del autor: Gonzales Ramirez, Janet Pilar



(Nombre y Firma)

Firma del 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, Lucia Valladares Vargas, con DNI 47442903 en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título "**EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE Vitis vinífera (UVA ) SOBRE Streptococcus mutans ATCC 25175**", **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 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, 7 de febrero 2024.



(Nombre y Firma)

Firma del autor: Gonzales Ramirez, Janet Pilar



(Nombre y Firma)

Firma del 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

# EFFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE Vitis vinífera (UVA) SOBRE Streptococcus mutans ATCC 25175

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="http://repositorio.uma.edu.pe">repositorio.uma.edu.pe</a> Fuente de Internet	17%
2	<a href="http://repositorio.uladech.edu.pe">repositorio.uladech.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
3	<a href="http://www.silae.it">www.silae.it</a> Fuente de Internet	1%

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Activo

## **DEDICATORIA**

Mi convicción en Dios ilumina mi camino en cada paso que tomo, expresando gratitud por su guía constante. También le doy las gracias por protegerme y brindar bienestar a mis queridos padres, quienes son mi apoyo incondicional en cualquier situación. Su cariño y respaldo son invaluable, y me considero afortunado de tener su presencia en mi vida.

Bach. Gonzales Ramirez, Janet Pilar

Agradezco a Dios por bríndame fuerza y salud por permitirme llegar esta etapa de mi vida profesional. Manifiesto mi sincero agradecimiento por la orientación que ilumina mi sendero en cada paso que tomo a diario. Reconozco y valoro la salvaguarda que he recibido y las bendiciones de bienestar otorgadas a mis queridos progenitores, hermanos y mi adorado hijo Liam que es mi motor y motivo de crecer profesionalmente. El respaldo incondicional que siempre encuentro en ellos es un tesoro inestimable que aprecio enormemente. Me considero realmente afortunado por contar con su amor y apoyo constante en mi existencia.

Bach. Valladares Vargas, Lucia

## **AGRADECIMIENTO**

Queremos expresar nuestro sincero agradecimiento a la Universidad María Auxiliadora por proporcionarnos la educación académica necesaria para nuestro desarrollo profesional y la consecución de nuestras metas establecidas.

Agradecer al Sr. Juan Pablo Quispe Abalos, responsable del Fundo “La Caída”, por su gran amabilidad y el apoyo en la recolección de nuestra muestra. A los pobladores de Santa Cruz de Flores, por su gran acogida en nuestra estadía.

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

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

## ÍNDICE GENERAL

RESUMEN .....	v
ABSTRACT .....	vi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
II.1. Enfoque y diseño de la investigación .....	9
II.2. Población, muestra y muestreo.....	9
II.3. Variables de investigación .....	10
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	10
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos .....	10
II.6. Procesamiento del análisis estadístico .....	13
II.7. Aspectos éticos .....	13
III. RESULTADOS .....	14
IV. DISCUSIÓN.....	22
IV.1. Discusión de resultados.....	22
IV.2. Conclusiones .....	26
IV.3. Recomendaciones .....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28
ANEXOS .....	33
ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos.....	33
ANEXO B. Matriz de consistencia .....	35
ANEXO C. Operacionalización de las variables .....	36
ANEXO D. Certificado Taxonómico.....	37
ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio.....	38
ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton .....	39
ANEXO G. Certificado de análisis de Cepa <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	43
ANEXO H. Evidencias fotográficas .....	45
ANEXO I. Porcentaje de rendimiento .....	55
ANEXO J. Carta de autorizacion para la recolección de la muestra .....	56

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prueba solubilidad del extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (uva) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	14
Tabla 2. Promedio de los valores obtenidos de las mediciones de los halos de inhibición del extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (uva) sobre <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	15
Tabla 3. Análisis descriptivos estadísticos de los resultados obtenidos en la prueba microbiológica de la variedad bacteriana <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 ...	16
Tabla 4. Tamizaje fitoquímico del extracto del extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (uva) .....	18
Tabla 5. Pruebas de ANOVA de los halos obtenidos frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	19
Tabla 6. Comparaciones múltiples de los halos de inhibición de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	19
Tabla 7. Prueba de subconjuntos de Tukey para <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	21

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 . Muestra de tipo Semillas <i>Vitis vinífera</i> (uva) .....	45
Figura 2. Lavado de la muestra.....	45
Figura 3. Selección de la muestra .....	45
Figura 4. Extracción de semillas.....	46
Figura 5. Procedimiento de secado de la muestra .....	46
Figura 6. Procedimiento de molienda de la muestra .....	46
Figura 7. Preparación del macerado del extracto etanólico .....	47
Figura 8. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico.....	47
Figura 9. Obtención de extracto seco.....	47
Figura 10. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad .....	48
Figura 11. Resultado de prueba de solubilidad .....	48
Figura 12. Adición de extracto a los tubos de ensayo .....	49
Figura 13. Resultado de la marcha fitoquímica .....	49
Figura 14. Pesando del Agar.....	50
Figura 15. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica .....	50
Figura 16. Agar Mueller Hinton.....	50
Figura 17. Placas preparadas .....	51
Figura 18. Cepa biológica de tipo: <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.....	51
Figura 19. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mc. Farland .....	51
Figura 20. Rotulado de placas.....	52
Figura 21. Sembrado de la cepa biológicas en las placas .....	52
Figura 22. Efectuando pozos en agar con ayuda de un sacabocado.....	52
Figura 23. Sustancias experimentales y controles .....	53
Figura 24. Incubación de <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175 .....	53
Figura 25. Placas Petri con halos de inhibición .....	53
Figura 26. Lectura de resultados.....	54
Figura 27. Lectura de resultados.....	54

## RESUMEN

**Objetivo:** Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Materiales y métodos:** de tipo cuantitativo, experimental; población: 15 Kg de *Vitis vinífera* (uva); muestra de 365.7 g de semilla *Vitis vinífera*; por otro lado, se empleó 10 placas Petri inoculadas con *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Además, se empleó la marcha fitoquímica, difusión en agar en pozos, constituida por grupos al 25 %, 50 % y 75 % frente a (Clorhexidina).

**Resultados:** Las medias de los diámetros en concentraciones del 25%, 50% y 75% del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175 fueron más bajos que los registrados por Clorhexidina. En examen numérico por medio de la prueba de ANOVA fue ( $p < 0,05$ ) en comparación con el conjunto de control. Además, se identificó la presencia de taninos, compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, alcaloides, antocianinas y azúcares reductores.

**Conclusión:** El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) presentó efecto antibacteriano al 25%, 50% y 75% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Palabras clave:** Actividad antibacteriana, *Vitis vinífera*, *Streptococcus mutans*

## ABSTRACT

**Objective:** To determine the in vitro antibacterial effect of the ethanolic extract of *Vitis vinifera* (grape) seeds against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Materials and methods:** quantitative, experimental; population: 15 Kg of *Vitis vinifera* (grape); sample of 365.7 g of *Vitis vinifera* seed; On the other hand, 10 Petri dishes inoculated with *Streptococcus mutans* ATCC 25175 were used. In addition, the phytochemical march was used, diffusion in agar in wells, consisting of groups at 25%, 50% and 75% against (Chlorhexidine).

**Results:** The means of the diameters in concentrations of 25%, 50% and 75% of the ethanolic extract of *Vitis vinifera* (grape) seeds against *Streptococcus mutans* ATCC 25175 were lower than those registered by Chlorhexidine. In numerical examination by means of the ANOVA test it was ( $p < 0.05$ ) compared to the control set. In addition, the presence of tannins, phenolic compounds,  $\alpha$ ,  $\beta$ -unsaturated lactones, alkaloids, anthocyanins and reducing sugars was identified.

**Conclusion:** The ethanolic extract of *Vitis vinifera* (grape) seeds presented an antibacterial effect at 25%, 50% and 75% against *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Key words:** Antibacterial activity, *Vitis vinifera*, *Streptococcus mutans*

## I. INTRODUCCIÓN

La caries dental es una patología bucodental altamente prevalente que afecta a un gran número de individuos a nivel mundial, esta condición dental debilita progresivamente los dientes y puede resultar en la formación de caries, el cual es reconocida como una de las principales causas de dolor y pérdida de dientes, con repercusiones significativas en la calidad de vida y el bienestar general de las personas (1). La presencia de la bacteria *Streptococcus mutans* en la cavidad oral representa una situación problemática a nivel mundial en relación con la caries dental (2). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), alrededor del 60% de la población mundial alberga esta bacteria, mientras que la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) y el Consejo de Europa informan que aproximadamente el 90% de las personas han experimentado caries dental en algún momento de sus vidas (3).

La presencia de la bacteria *Streptococcus mutans* se estima en alrededor del 60% de la población de Oceanía. En términos de caries dental, la prevalencia promedio es de alrededor del 90% en Australia y Nueva Zelanda (4). Además, la prevalencia de caries dental, se estima que afecta a alrededor del 85-90% de la población en China y Japón (5). En África, la prevalencia de caries dental puede variar en diferentes regiones, pero en promedio afecta aproximadamente al 80-99% de la población africana, principalmente en Sudáfrica y Nigeria (6). En Europa, la prevalencia de caries dental afecta a un 40% en promedio, en países como Alemania, Francia, Italia, España y Reino Unido (7).

Por otro lado, en Estados Unidos, aproximadamente el 45% de los adultos de 20 a 64 años tienen caries no tratadas, mientras que el 13% de los adolescentes de 14 a 17 años y el 23% de los niños de 2 a 5 años también sufren de caries no tratadas (8).

En Latinoamérica, la caries dental afecta entre el 60% y 90% de la población de 5 a 17 años, según la OPS. Además, se observa un aumento en la prevalencia de úlceras cariosas en las naciones agrícolas no industriales (9). Según información del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), se estima que aproximadamente el 90% de la población mexicana experimenta la presencia de

cavidades dentales (10). De acuerdo con información proporcionada por el Departamento de Salud de Brasil, se calcula que alrededor del 70% de los habitantes sufren de deterioro dental. Por otra parte, en Ecuador, se estima que el 80% de los ciudadanos experimenta la presencia de cavidades dentales (11).

Finalmente, en Perú, se estima que alrededor del 85% de los habitantes experimenta la presencia de cavidades dentales, según el Ministerio de Salud. Del mismo modo, se observó en un centro hospitalario en Lambayeque una alta prevalencia de caries dental en niños de 6 y 7 años, donde se encontró que el 23,64% de los menores sufrían de esta condición y no recibían atención regular en clínicas públicas para tratarla (12). Asimismo, en un establecimiento sanitario en la ciudad de Lima se evaluó la excelencia de la limpieza oral en infantes de 1 a 4 años, manifestando que el 36,8% de los individuos evidenciaban una escasa frecuencia de afecciones dentales, mientras que el 63,2% indicó una predominancia de mala higiene bucal con una proporción superior al 50% (13).

Por lo tanto, la caries dental en el Perú tiene diversas causas subyacentes, como la falta de educación y conciencia sobre la importancia de la higiene oral contribuye a un cuidado insuficiente de los dientes y encías. Además, una dieta alta en azúcares, que incluye alimentos y bebidas procesadas, así como una ingesta excesiva de alimentos y bebidas azucaradas, desempeñan un papel importante en el desarrollo de la caries. El acceso limitado a servicios de atención dental en algunas áreas del país también dificulta que las personas reciban el cuidado y los tratamientos necesarios para prevenir y tratar la caries dental. Estos factores combinados crean un entorno propicio para el desarrollo de la enfermedad en la población peruana (14).

La caries dental en el Perú tiene consecuencias significativas para la población. El dolor dental y la incomodidad resultantes de las cavidades cariosas afectan la calidad de vida de las personas, dificultando actividades básicas como comer y hablar. Las infecciones bucales también pueden desarrollarse a partir de la caries dental, extendiéndose a otras partes del cuerpo y afectando la salud en general. Además, la pérdida de dientes es una consecuencia común de la caries, lo que no solo tiene implicaciones funcionales, sino también estéticas y emocionales, afectando la autoestima y la confianza de las personas. La caries dental también

representa una carga económica significativa, tanto para los individuos como para el sistema de salud, debido a los costos asociados con los tratamientos y la pérdida de productividad (14).

Es por lo que el uso de especies vegetales y sus derivados son de gran importancia en la búsqueda de alternativas naturales y efectivas para combatir las infecciones bacterianas. En un contexto de creciente resistencia a los antibióticos convencionales y limitado acceso a medicamentos, estas plantas ofrecen una opción accesible y potencialmente terapéutica. Su riqueza en compuestos activos les confiere propiedades antimicrobianas, permitiéndoles inhibir el crecimiento de bacterias y tratar infecciones (15). Además, su enfoque holístico y tradicional brinda una alternativa más suave con menos efectos secundarios, es así como *Vitis vinífera* (uva) ha despertado interés debido a sus usos antibacterianos, especialmente en relación con las propiedades de las semillas. Por lo mismo, se propone explorar el potencial fitoterapéutico integral de las semillas de *Vitis vinífera*, sin embargo, es importante destacar la necesidad de utilizar estas plantas bajo la guía de profesionales de la salud y en complemento con el tratamiento médico convencional, para garantizar su uso seguro y eficaz en la lucha contra las infecciones bacterianas (16).

Es por lo que el presente estudio plantea el siguiente problema general:

¿Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

Asimismo, genera las, siguientes subpreguntas:

- ¿Qué tipo de metabolitos secundarios responsables del efecto antibacteriano in vitro poseerá el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva)?
- ¿Evaluar que concentración del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) presentará efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175?
- ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) comparado con clorhexidina frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175?

La especie biológica *Streptococcus mutans* es una bacteria Gram positiva que se caracteriza por ser destructiva y tener la capacidad de alterar el pH salival de 7 a 4.2 en un período de 24 horas. Ha sido clasificada en diversos serotipos, incluyendo los serotipos c, e, f y k, en función de sus propiedades inmunológicas, orgánicas y hereditarias. *S. mutans* habita en la cavidad bucal humana y se adhiere tanto a las superficies dentales sólidas como a las lesiones cariosas (17).

Por otro lado, la *Vitis vinífera*, o uva, es una planta trepadora que se encuentra en diferentes regiones del mundo, sus flores forman racimos que se convierten en uvas. En cuanto a su composición fitoquímica, las semillas de uva contienen diversos compuestos beneficiosos para la salud, entre ellos se destacan los polifenoles, como las proantocianidinas y el resveratrol, que son conocidos por sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Estos compuestos fitoquímicos se encuentran principalmente en las semillas de uva y han sido objeto de estudio debido a sus potenciales efectos positivos en la salud. El extracto etanólico de semillas de uva ha mostrado efecto bactericida contra diversas cepas bacterianas, incluyendo *Streptococcus mutans*. Existen investigaciones que indican que el extracto etanólico de las semillas de *Vitis vinífera* (uva) podría presentar efectos antimicrobianos y antioxidantes beneficiosos contra la caries dental, aunque se requiere más investigación para confirmar su eficacia y uso potencial (18).

## **ANTECEDENTES INTERNACIONALES**

**Krasteva D, et al.** (2023), Estudio realizado en Bulgaria, el cual tuvieron como objetivo evaluar el contenido fenólico total, la composición, las actividades antioxidantes y antibacterianas de cuatro extractos de semilla de uva, empleando la técnica de difusión mediante pozos en agar. Hallando que Las bacterias analizadas mostraron una alta sensibilidad a los extractos (MIC = 0,12– 0,50 mg/mL). De acuerdo con los valores de MIC, las bacterias estaban en el siguiente orden: Gram positiva: *S aureus*; >*B. cereus* > *E. coli*. Concluyendo que los GSE estudiados tienen un buen potencial como agentes antioxidantes y antimicrobianos (19).

**Luchiano C, et al.** (2019), Estudio realizado en Rumania, el cual tuvieron como objetivo evaluar la actividad antibacteriana de los extractos de orujo de uva contra

diferentes patógenos (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 90028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), y su actividad antioxidante. Obteniendo como resultados que el orujo de uva es una fuente potencial de agentes antioxidantes naturales. Concluyendo que el orujo de uva representa una fuente importante de resveratrol y otros compuestos bioactivos que podrían ser una valiosa fuente de antioxidantes para su posterior utilización en la industria alimentaria y farmacéutica, no obstante las muestras analizadas no presentaron actividad antibacteriana (20).

**Radulescu C, et al.** (2020), Estudio realizado en Rumania, el cual tuvieron como objetivo comparar algunas de las características fitoquímicas y la actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos (50%v/v) obtenidos de cuatro variedades de uvas, utilizando el método de difusión en placa de agar. Obteniendo como resultado que los valores más altos de actividad antibacteriana se registraron en el caso de los extractos hidroalcohólicos de las semillas de las variedades ecológicas Moscatel Hamburgo y Merlot, respectivamente, y Pinot Noir. Concluyendo que los extractos hidroalcohólicos de las semillas de las variedades orgánicas presentaron actividad antibacteriana favorable contra las cepas de bacterias probadas (21).

**Caicedo J, et al.** (2018), Estudio realizado en Ecuador, quienes evidenciaron como objetivo evaluar el efecto bactericida de extractos acuosos de uva *Vitis vinífera* de diferentes partes de la planta sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Se utilizó clorhexidina al 0.12% como referencia positiva y agua destilada como referencia negativa, mediante la técnica de Kirby Bauer. Los resultados manifestaron que la actividad antimicrobiana del extracto acuoso de semillas de uva al 100% fue equiparable al de la clorhexidina al 0.12% frente a *Streptococcus mutans*, mientras que la concentración al 70% de este extracto presentó una inhibición menor. Concluyendo que las semillas de *Vitis vinífera* evidenciaron actividad bactericida contra *Streptococcus mutans* (22).

## ANTECEDENTES NACIONALES

**Rodriguez D.** (2022), Estudio realizado en Trujillo, el cual su objetivo fue examinar la capacidad antibacteriana en distintas concentraciones hidroetanólicas de *Vitis vinífera* y *Vaccinium corymbosum* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175, mediante la técnica de difusión de agar en pozo. Obteniendo como resultado, que el extracto de semillas de uva evidenció un promedio de 10.07 mm (15%) y 12.11 mm (30%) halos respectivamente. Se encontró una diferencia estadísticamente significativa ( $p=0.000<0.05$ ) entre los tratamientos. Concluyendo que las semillas de *Vitis vinífera* presentan actividad bactericida (23).

**Villanueva J.** (2020), Estudio realizado en Trujillo, el cual su objetivo fue evaluar la efectividad combinada del extracto etanólico concentrado de semilla de *Vitis vinífera* (uva) (EEVV) y la oxacilina en la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, mediante la técnica de difusión de agar en pozo. Como resultados se obtuvo que el extracto etanólico de semilla de uva (EEVV) mostró un promedio de inhibición de 34.60 mm, superando el valor mínimo establecido por el CLSI (>13 mm). Sin embargo, no alcanzó el tamaño de inhibición observado con la oxacilina (43.60 mm). Concluyendo que el extracto etanólico concentrado de semilla de *Vitis vinífera* demuestra un efecto bactericida en la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, según se evidencia por los resultados que cumplen con los criterios establecidos por el CLSI (mayor a 13 mm) (24).

La justificación teórica de esta investigación se basó en la necesidad de encontrar alternativas naturales y seguras para combatir la caries dental, así como en la evidencia existente sobre las propiedades antimicrobianas de las semillas de uva. Además, esta investigación pudo contribuir al conocimiento científico actual al proporcionar información sobre la eficacia de las semillas de uva frente a *Streptococcus mutans*, lo cual podría tener implicaciones significativas en la práctica clínica y la salud bucal de la población.

Por otro lado, a nivel práctico respecto a la eficacia de las semillas de uva en la inhibición del crecimiento y la actividad de *Streptococcus mutans*, esto podría llevar al desarrollo de nuevos productos de cuidado bucal que utilicen extractos o compuestos derivados de las semillas de uva. Estos productos podrían ofrecer una alternativa natural y segura a los enjuagues bucales y otros agentes

antimicrobianos convencionales, reduciendo así la exposición a productos químicos sintéticos y sus posibles efectos secundarios. Además, el uso de semillas de uva como agente antibacteriano podría tener un impacto significativo en la prevención y el tratamiento de la caries dental. Al ser un subproducto de la industria vinícola, las semillas de uva son fácilmente accesibles y podrían convertirse en una opción económica y sostenible para el cuidado bucal. Esto sería especialmente relevante en áreas con recursos limitados o en comunidades donde la atención dental es escasa (25).

Finalmente, a nivel metodológico se planteó el uso del método de difusión en agar el cual es una prueba de sensibilidad microbiológica que determinó la eficacia de la especie vegetal en investigación.

Del estudio actual se planteó como objetivo general

- Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Se proponen como objetivos secundarios:

- Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) responsables del efecto antibacteriano in vitro
- Determinar a qué concentración el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) presentará efecto antibacteriano in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175
- Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) con clorhexidina frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Hipótesis general:

- El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) presenta actividad antibacteriana in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175

Por otro lado, se propone las hipótesis específicas:

- El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) posee metabolitos secundarios de tipo flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos, taninos y antraquinonas responsables del efecto antibacteriano in vitro
- El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) tiene efecto antibacteriano in vitro a concentraciones del 25%, 50% y 75% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) es significativamente mayor comparado con clorhexidina frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

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

**Enfoque:** cuantitativo, que implica realizar mediciones para identificar patrones, formular hipótesis y contrastarlos (26).

**Diseño:** Experimental, ya que se manipuló y controló la variable independiente para observar su efecto en la variable dependiente (27).

**Explicativo:** Debido a que el objetivo de este estudio fue examinar y comprender la relación causal entre las variables y eventos analizados (28)

**Transversal:** Debido que la recolección de datos se realizó en un único momento (29).

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

Población de 15 Kg de *Vitis vinífera* (uva) proveniente del distrito de Santa Cruz de Flores, provincia de Cañete, ubicado en el departamento de Lima con una altitud a 85 m.s.n.m. y coordenadas de 12°37'10.28" S, 76°38'29.48" W.

La muestra fue de 365.7 g de semilla *Vitis vinífera* (uva).

Por otra parte, la población biológica estuvo compuesta por la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

#### **Criterios de inclusión:**

- Frutos maduros y saludables de la planta *Vitis vinífera*.
- Frutos recolectados de viñedos que se encuentran en un estado fisiológico óptimo.

#### **Criterios de exclusión:**

- Frutos dañados
- Frutos afectados por enfermedades o plagas.
- Muestra vegetal sin identificación taxonómica.

**Muestreo:** El proceso de selección de la muestra fue de tipo probabilística aleatorio simple (30).

### II.3. Variables de investigación

**Variable Independiente:** Extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva).

**Definición conceptual:** Extracto adquirido a través del procedimiento de la maceración con etanol de semillas *Vitis vinífera* (uva) (31).

**Definición operacional:** Técnica de maceración de semillas de *Vitis vinífera* (uva).

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

**Definición conceptual:** Aptitud del extracto de etanol para restringir el desarrollo de bacterias (32).

**Definición operacional:** Las medidas de los halos inhibitorios generados por pozos de 6 mm con el fin de evaluar las dimensiones experimentales que se obtuvieron mediante el método de difusión en agar.

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

Técnica metodológica fue la observación. Por otra parte, en relación con los procesos fitoquímicos se llevó a cabo la exploración fitoquímica inicial, y con respecto al análisis microbiológico fue la técnica de difusión en agar Kirby-Bauer.

El instrumento utilizado fue la ficha de observación, el cual se utilizó para recolectar información de los estudios fitoquímicos y microbiológicos (33).

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

#### II.5.1. Recolección de la muestra vegetal

Las semillas de *Vitis vinífera* (uva) se obtuvieron en el distrito de Santa Cruz de Flores, provincia de Cañete, ubicado en el departamento de Lima solicitando el permiso correspondiente a la zona de recolección.

### II.5.2. Reconocimiento de la muestra vegetal

La determinación de la planta en cuanto a su categorización taxonómica fue realizada por un biólogo taxónomo especialista el cual proporcionó un certificado confirmatorio de la especie *Vitis vinífera* (uva).

### II.5.3. Preparación del extracto

Las muestras de *Vitis vinífera* (uva) se lavaron y cortaron los frutos para retirar las semillas correspondientes de manera cuidadosa en un material de acero. La purificación fue llevada a cabo empleando agua potable con el propósito de eliminar los residuos de pulpa de la fruta. Posteriormente, se expusieron a temperatura ambiente durante aproximadamente 2 horas.

Luego se procedió a lavar las semillas con agua destilada para la deshidratación. Posteriormente las semillas de *Vitis vinífera* (uva) se colocaron en una bandeja de vidrio el cual fue llevado a una estufa a temperatura de 40° por 48 horas hasta obtener una deshidratación total. Finalmente se procedió a moler las semillas para proceder con el proceso de maceración por 5 días, después, se procedió a la filtración y la adquisición del extracto en forma deshidratada (34).

### II.5.4. Porcentaje de rendimiento

Con el fin de calcular el porcentaje de rendimiento, se empleó la fórmula siguiente (35).

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

Donde:

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

### II.5.5. Prueba de solubilidad

Con el fin de llevar a cabo esta evaluación, se necesitaron 0,5 g del extracto en estado deshidratado y 1 mL de los solventes orgánicos, alcohólicos, polares y apolares (36).

### **II.5.6. Marcha fitoquímica del extracto**

Se utilizó la técnica de Olga Lock para realizar un tamizaje fitoquímico preliminar. Se empleó diferentes reactivos en 14 tubos de ensayo, cada uno con 1 mL del extracto. Los reactivos incluyeron, Benedict (para Azúcares reductores), NaOH 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  $\alpha$ ,  $\beta$  insaturadas), Borntrager (para Quinonas), Liebermann-Burchard (para Triterpenos y esteroides) y Mayer (para Alcaloides). Además, se utilizó el índice Afro simétrico para la detección de saponinas (37).

### **II.5.7. Análisis Microbiológico**

**Activación de las cepas *Streptococcus mutans* ATCC 25175:** El procedimiento se realizó utilizando Kwik-stik, que consistió en presionar la ampolla en la parte superior del recipiente para liberar el líquido hidratante hacia la base. Después de esta etapa, se recolectó la muestra y se transfirió a una placa con agar sangre, que se incubó a 37° C durante un día completo (24 horas).

Con el propósito de lograrlo, se generó una mezcla directa de la cepa y se ajustó su densidad óptica de acuerdo con la escala 0,5 de McFarland, lo cual equivale a una concentración de (1,5 x 10<sup>8</sup> UFC/mL) (38).

**Preparación del Inoculo:** Se preparó una suspensión directa de la colonia obtenida de la placa previamente incubada, utilizando una solución salina (cloruro de sodio 0.9%).

**Inoculación de las Placas:** Fue llevado a cabo en recipientes con medio de cultivo Mueller-Hinton, el cual fue preparado de acuerdo con las indicaciones del fabricante. La muestra fue sembrada utilizando una barra de siembra correctamente esterilizada mediante la técnica de trazado en forma de cruz para asegurar una distribución más homogénea en el medio de cultivo.

**Preparación de pozos:** Se utilizó un material de acero estéril de 6 mm de diámetro para preparar los pozos mediante el uso de un sacabocado. Posteriormente, se

agregaron 20 uL de las sustancias experimentales a diferentes concentraciones, partiendo del extracto seco al cual se añadió.

- Grupo extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* al 25 %
- Grupo extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* al 50 %
- Grupo extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* al 75 %
- Grupo control: Clorhexidina
- Grupo control: DMSO

Después, se procedió a poner en cultivo todas las placas, manteniéndolas a una temperatura de 37°C durante un lapso de 24 a 48 horas. Por último, estos resultados fueron medidos utilizando el calibrador digital y evaluados mediante la "Escala de Duraffourd" (39).

## **II.6. Procesamiento del análisis estadístico**

Se llevó a cabo la recolección de información utilizando una ficha de observación que fue integrada posteriormente en la plataforma de documentos en SPSS versión 27. Se empleó métodos estadísticos para analizar los datos, incluyendo frecuencias absolutas, frecuencias relativas y medidas de tendencia central. Además, se utilizó herramientas estadísticas inferenciales como ANOVA y la prueba de Tukey para realizar un análisis de los resultados obtenidos

## **II.7. Aspectos éticos**

A lo largo del desarrollo de la investigación, se llevó a cabo la manipulación adecuada de la cepa bacteriana y los instrumentos de laboratorio necesarios. Asimismo, se implementó acciones para prevenir la contaminación ambiental, asegurando la apropiada gestión y eliminación de los productos biológicos empleados (40)

### III. RESULTADOS

#### III.1. Prueba de solubilidad

Tabla 1. Prueba solubilidad

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	-
N° 9	Dimetilsulfóxido	+++

#### Leyenda:

- Insoluble: (-)
- Poco soluble: (+)
- Medianamente soluble: (++)
- Muy soluble: (+++)

Se presenta el ensayo de solubilidad realizado con el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva). El resultado de mayor solubilidad (+++) fue observado en los solventes dimetilsulfóxido y etanol 96; le sigue el metanol con media solubilidad (++) y poca solubilidad en Etanol 70 (+).

#### III.2. Contrastación de hipótesis general

##### Hipótesis estadística

**H0:** El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) no presenta actividad antibacteriana in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**H1:** El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) presenta actividad antibacteriana in vitro frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se efectuaron análisis estadísticos descriptivos para contrastar la hipótesis planteada. Los resultados indicaron que los valores obtenidos en cada grupo de

estudio se encontraban dentro de los límites de confianza establecidos, respaldando así la validez de la hipótesis planteada en la investigación.

En la tabla 2 se evidencia los resultados de los halos de inhibición del análisis microbiológico.

**Tabla 2. Promedio de los valores obtenidos de las mediciones de los halos de inhibición del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	DMSO	25%	50%	75%	Clorhexidina
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	6	9.21	10.41	12.70	18.80
	6	9.23	10.39	12.69	18.84
	6	9.21	10.37	12.67	18.89
	6	9.23	10.40	12.68	19.06
	6	9.28	10.41	12.71	19.10
	6	9.21	10.38	12.66	18.88
	6	9.22	10.40	12.68	18.82
	6	9.23	10.39	12.68	18.80
	6	9.22	10.39	12.67	18.86
	6	9.24	10.40	12.70	18.84
<b>Media</b>	<b>6</b>	<b>9.23</b>	<b>10.39</b>	<b>12.68</b>	<b>18.89</b>

En la tabla 3 se evidencia que para *Streptococcus mutans* ATCC 25175, el DMSO 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 ser contrastado con la escala de Duraffourd, se evidenció que las concentraciones del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) al 25%, 50% y 75% evidenciaron una sensibilidad baja con una medida de (9,2280 mm; 10,3940 mm, 12,6840 mm) respectivamente. Además, la cepa evidenció ser muy sensible frente al control Clorhexidina con una media de 18,8890 mm.

**Tabla 3. Análisis descriptivos de los resultados obtenidos en la prueba microbiológica de la variedad bacteriana *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

95% de intervalo de confianza para la media							
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite inferior	Límite superior
<i>Streptococcus mutans</i>	DMSO	10	6,00	0,00000	0,00000	6,0000	6,0000
	Ext. 25%	10	9,22	0,02098	0,00663	9,2130	9,2430
	Ext. 50%	10	10,39	0,01265	0,00400	10,3850	10,4030
ATCC 25175	Ext. 75%	10	12,68	0,01578	0,00499	12,6727	12,6953
	Clorhexidina	10	18,88	0,10546	0,03335	18,8136	18,9644

**Decisión:** La hipótesis nula H<sub>0</sub>, que sugiere que el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) no muestra actividad antibacteriana in vitro contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175, fue rechazada. En otras palabras, se encontró evidencia de que el extracto sí posee actividad antibacteriana contra esta cepa específica de *Streptococcus mutans*.

### III.3. Contrastación de hipótesis específicas

#### a) Hipótesis Específica N° 01

**H<sub>0</sub>:** El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) no posee metabolitos secundarios de tipo flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos, taninos y antraquinonas responsables del efecto antibacteriano in vitro

**H<sub>1</sub>:** El extracto etanólico de semis de *Vitis vinífera* (uva) posee metabolitos secundarios de tipo flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos, taninos y antraquinonas responsables del efecto antibacteriano in vitro.

**Tabla 4. Tamizaje fitoquímico del extracto del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva)**

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

Se llevó a cabo el análisis fitoquímico para comprobar la hipótesis propuesta, se identificaron fitoconstituyentes en el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva). Se observó la presencia de taninos, compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, alcaloides, antocianinas y azúcares reductores con una abundante presencia (+++). Además, antraquinonas y saponinas.

**Decisión:** Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , el cual sostiene que el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) no posee metabolitos secundarios responsables del efecto antibacteriano in vitro.

#### **b) Hipótesis Específica N° 02**

**H0:** El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) no tiene efecto antibacteriano in vitro a concentraciones del 25%, 50% y 75% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**H1:** El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) tiene efecto antibacteriano in vitro a concentraciones del 25%, 50% y 75% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

**Tabla 5. Pruebas de ANOVA**

ANOVA						
		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b><i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</b>	Entre grupos	926,158	4	231,539	96716,575	0,000
	Dentro de grupos	0,108	45	0,002		
	Total	926,266	49			

La prueba de ANOVA se empleó para evaluar si existen diferencias significativas entre los tratamientos mediante la comparación de sus medias. En la tabla 5, se observó un resultado con un valor de  $p < 0.05$  (sig), el cual evidencia que hay diferencias significativas entre los tratamientos aplicados frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175. 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 *Streptococcus mutans* ATCC 25175**

Comparaciones múltiples						
(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Clorhexidina	DMSO	12,88900*	0,02188	0,000	12,8268	12,9512
	25%	9,66100*	0,02188	0,000	9,5988	9,7232
	50%	8,49500*	0,02188	0,000	8,4328	8,5572
	75%	6,20500*	0,02188	0,000	6,1428	6,2672
DMSO	Clorhexidina	-12,88900*	0,02188	0,000	-12,9512	-12,8268
	25%	-3,22800*	0,02188	0,000	-3,2902	-3,1658
	50%	-4,39400*	0,02188	0,000	-4,4562	-4,3318
	75%	-6,68400*	0,02188	0,000	-6,7462	-6,6218

Se pudo observar que  $p < 0.05$  en comparaciones entre la (Clorhexidina) y los grupos experimentales al 25%, 50% y 75%, el cual evidencia que la Clorhexidina muestra un efecto inhibitorio significativamente mayor que los experimentales en todas las concentraciones frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Además, se observa que  $p < 0.05$  entre (DMSO) y los grupos experimentales, lo cual evidencia que existen diferencias estadísticamente significativas a favor de los grupos en investigación.

**Decisión:** Se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , el cual indica que el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) no tiene efecto antibacteriano in vitro a concentraciones del 25%, 50% y 75% frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

### **c) Hipótesis Específica N° 03**

**H0:** El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) no es significativamente mayor comparado con clorhexidina frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175

**H1:** El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) es significativamente mayor comparado con clorhexidina frente *Streptococcus mutans* ATCC 25175.

Se puede apreciar que, para *Streptococcus mutans* ATCC 25175, las medias de los diámetros de inhibición a diferentes concentraciones del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) son menores en relación a los logrados por la Clorhexidina. Esto pone de manifiesto que el agente antibacteriano utilizado como referencia positiva presenta una medida de inhibición más amplia (18,8890 mm) que los grupos de experimentación.

**Tabla 7. Prueba de subconjuntos de Tukey**

HSD Tukey <sup>a</sup>						
Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
DMSO	10	6,0000				
25%	10		9,2280			
50%	10			10,3940		
75%	10				12,6840	
Clorhexidina	10					18,8890
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

**Decisión:** Por consiguiente, no se rechaza la hipótesis nula (H0), en otras palabras, no se encontró evidencia de que el extracto tenga una actividad antibacteriana significativamente superior a la clorhexidina contra esta cepa específica de *Streptococcus mutans*.

## IV. DISCUSIÓN

### IV.1. Discusión de resultados

La resistencia a los tratamientos de *Streptococcus mutans* ATCC representa un desafío global en la salud oral. Esta bacteria cariogénica ha desarrollado resistencia a los tratamientos convencionales, como antibióticos y agentes antimicrobianos. Factores como la exposición prolongada y el uso indiscriminado de antibióticos contribuyen a esta resistencia, esta situación dificulta la prevención y el control de las caries dentales, planteando un problema significativo en la salud bucal a nivel mundial.

De acuerdo con el objetivo general, en la tabla 2 y 3, se identificó que el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) presentó actividad bactericida en todas las concentraciones del 25%, 50% y 75% sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175 con una sensibilidad baja con valores de (9,2280 mm; 10,3940 mm, 12,6840 mm) respectivamente. El mismo que coincide con el estudio de **Radulescu C, et al.** (2020), quienes compararon algunas de las características fitoquímicas y la actividad

antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos (50%v/v) obtenidos de cuatro variedades de uvas, obteniendo que los extractos hidroalcohólicos de las semillas de las variedades orgánicas presentaron actividad antibacteriana favorable contra las cepas de bacterias probadas entre ellas, *Streptococcus sp.* (21). La coincidencia entre los estudios se debió a que ambos utilizaron extractos de semillas de uva y evaluaron su actividad antimicrobiana. Los resultados indicaron la presencia de compuestos fitoquímicos con propiedades antibacterianas en las semillas de uva. Aunque los estudios se llevaron a cabo en diferentes ubicaciones geográficas, los factores ambientales no parecieron influir significativamente. Además, se realizaron controles adecuados para garantizar la validez de los resultados. Por otro lado, difiere con el estudio de, **Luchiano C, et al.** (2019), quienes evaluaron la actividad antibacteriana de los extractos de orujo de uva contra (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 90028, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923). Obteniendo que el orujo de uva, no presentó actividad antibacteriana (20). Las diferencias en los resultados entre los estudios pueden explicarse por diferentes objetivos y enfoques, así como por variaciones

ambientales y metodológicas. Mientras que un estudio se centró en el efecto bactericida de los extractos de semillas de uva, otro se enfocó en la actividad del orujo y compuestos bioactivos. Las condiciones de cultivo, las concentraciones utilizadas, las cepas bacterianas y los protocolos de control también pueden haber influido en las disparidades observadas.

De acuerdo con el objetivo específico 1, en la tabla 4, se realizó la marcha fitoquímica, revelando el notable cambio de color y precipitación en los tubos de ensayo que correspondió a los taninos mediante el reactivo gelatina, compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, alcaloides, antocianinas, azúcares reductores, antraquinonas y saponinas. Semejante al estudio de **Krasteva D, et al.** (2023), quienes evaluaron el contenido fenólico total, la composición, las actividades antioxidantes y antibacterianas de cuatro extractos de semilla de uva, de los metabolitos analizados: flavonoides, antocianinas, procianidinas y ácido ascórbico, tuvieron un buen potencial como agentes antioxidantes y antimicrobianos (19). Las similitudes en el análisis fitoquímico entre ambos estudios pueden atribuirse a la presencia de metabolitos comunes en las semillas de uva utilizadas, así como el ambiente de cultivo en su composición química. Factores como el clima, la altitud y las prácticas agrícolas pueden afectar la síntesis y acumulación de metabolitos. Así como la consistencia en la metodología utilizada, incluyendo las técnicas analíticas, solventes y protocolos de extracción.

Los compuestos fenólicos, alcaloides, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, taninos y antocianinas presentes en las semillas de *Vitis vinifera* (uva) exhiben un mecanismo de acción antibacteriano contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estos componentes naturales presentes en las semillas de uva actúan de diferentes maneras para inhibir el crecimiento y la actividad de esta bacteria. Los compuestos fenólicos y las antocianinas muestran propiedades antimicrobianas al interferir con la integridad de la membrana celular bacteriana, causando su disrupción y daño. Los alcaloides, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas y taninos también contribuyen a la actividad antibacteriana al afectar las funciones vitales de las bacterias, como la síntesis de proteínas y el metabolismo energético, lo que resulta en la inhibición del crecimiento bacteriano. En conjunto, estos diversos compuestos presentes en las semillas de uva demuestran una notable capacidad para combatir la proliferación de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, lo que los convierte en candidatos

prometedores para el desarrollo de terapias o productos de cuidado oral con propiedades antimicrobianas (41).

De acuerdo con el objetivo específico 2, en la tabla 6, se identificó que el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) presentó efecto antibacteriano a mayor concentración del 75% con una medida de 12,6840 mm. Así mismo se determinó  $p < 0.05$  en comparaciones entre la (Clorhexidina) y los grupos experimentales. Corroborándose con la investigación por **Rodríguez D.** (2022), quien evaluó la actividad antibacteriana de semillas de *Vitis vinífera* (uva), obteniendo que los halos de inhibición promedio fueron de 10.07 mm (15%) y 12.11 mm (30%), así como ( $p = 0.000 < 0.05$ ) entre los tratamientos, indicando que las semillas de *Vitis vinífera* evidenciaron actividad bactericida (23). La coincidencia en los resultados de los estudios se debió a la evaluación de la actividad antibacteriana de extractos de semillas de *Vitis vinífera* sobre *Streptococcus mutans*. Ambos estudios utilizaron la técnica de difusión de agar en pozo y encontraron un efecto inhibidor significativo a una concentración del 75% y al 30% respectivamente. Esta concentración demostró ser óptima para lograr la actividad antibacteriana deseada, así como la metodología utilizada y la evaluación de la actividad antibacteriana.

De acuerdo con el objetivo específico 3, en la tabla 7, se evidenció que para *Streptococcus mutans* ATCC 25175, las medias de los diámetros de inhibición a diferentes concentraciones del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* fueron menores con relación a los logrados por la Clorhexidina. El cual señaló que el agente bactericida utilizado como referencia positiva presentó un diámetro de inhibición mayor con (18,8890 mm). Semejante con el estudio de **Caicedo J, et al.** (2018), quienes evaluaron la actividad antibacteriana de extractos acuosos de uva *Vitis vinífera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668. Evidenciando que la concentración al 100% tuvo un efecto bactericida similar al de la clorhexidina al 0.12%, mientras que la concentración al 70% de este extracto presentó una inhibición menor, indicando que las semillas de *Vitis vinífera* presentan efecto antibacteriano contra *Streptococcus mutans* (22). A pesar de que en general los extractos de semillas de uva no superaron al control positivo de Clorhexidina, en el segundo estudio se encontró que el extracto acuoso de semillas de uva al 100% mostró una actividad antibacteriana comparable a la Clorhexidina al 0.12% contra *Streptococcus mutans*. Esto resaltó el potencial del extracto de semillas de uva al

100% como agente inhibidor. Así mismo coincide con el estudio de **Villanueva J.** (2020), quien evaluó la efectividad combinada del extracto etanólico concentrado de semilla de *Vitis vinífera* (uva) y la oxacilina frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, obteniendo que el promedio obtenido fue de 34.60 mm, no obstante no alcanzó el tamaño de inhibición observado con la oxacilina (43.60 mm), indicando que el extracto etanólico de semilla de *Vitis vinífera* presentó actividad bactericida frente *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (24). Ambos estudios coincidieron en que las concentraciones de los extractos de semillas de *Vitis vinífera* resultaron en halos de inhibición más pequeños en comparación con los controles positivos de Clorhexidina y oxacilina.

El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera*, exhibe un efecto antibacteriano, pero su actividad es menor en comparación con la clorhexidina al 0.12% frente *Streptococcus mutans*. Esto se debe a varias razones. La clorhexidina es un compuesto sintético específicamente diseñado para combatir bacterias y se ha demostrado que tiene una amplia eficacia contra diversos patógenos orales, incluido el *Streptococcus mutans*. Por otro lado, el extracto etanólico de semillas de uva contiene una variedad de componentes bioactivos, como polifenoles y antocianinas, que pueden tener propiedades antimicrobianas, pero su actividad puede ser menos potente o específica en comparación con los compuestos químicos sintéticos como la clorhexidina. Además, la concentración y la pureza de los compuestos presentes en el extracto de semillas de uva pueden variar, lo que puede afectar su capacidad para combatir eficazmente las bacterias. Aunque el extracto de semillas de uva puede tener propiedades beneficiosas para la salud, en términos de actividad antibacteriana específica contra el *Streptococcus mutans*, la clorhexidina 0.12% ha demostrado ser más efectiva.

Por lo tanto, las semillas de *Vitis vinífera* (uva) presentan propiedades antibacterianas que pueden tener aplicaciones beneficiosas para la población. Estos compuestos naturales presentes en las semillas de uva pueden ayudar a combatir infecciones bacterianas, especialmente en el ámbito de la salud oral. Al reducir la carga bacteriana y prevenir el crecimiento de bacterias perjudiciales, las semillas de uva pueden contribuir a mejorar la salud bucal y prevenir enfermedades relacionadas. Además, su origen natural las convierte en una opción más segura y potencialmente menos dañina que los productos antimicrobianos convencionales.

## IV.2. Conclusiones

- El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) demostró poseer propiedades antibacterianas frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175.
- En el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva), se identificaron varios tipos de metabolitos secundarios con abundante presencia (+++), incluyendo taninos, compuestos fenólicos, lactonas  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturadas, alcaloides, antocianinas y azúcares reductores. También se encontraron antraquinonas y saponinas en menor cantidad (++) .
- El extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) mostró efecto antibacteriano contra *Streptococcus mutans* ATCC 25175 a concentraciones del 25%, 50% y 75%.
- Las concentraciones del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* (uva) en 25%, 50% y 75% mostraron efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, aunque fueron inferiores a los obtenidos por el control positivo de Clorhexidina 0.12%.

### IV.3. Recomendaciones

- Se recomienda realizar análisis complementarios para evaluar la dosis mínima inhibitoria (DMI) y la dosis mínima bactericida (DMB) del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Esto permitirá determinar la concentración más baja del extracto que puede inhibir el crecimiento bacteriano y la concentración mínima que puede eliminar las bacterias.
- Sería conveniente realizar pruebas de actividad antibacteriana utilizando otros microorganismos patógenos orales, además de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, para determinar el espectro de acción del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera*. Esto proporcionará una comprensión más completa de la eficacia antimicrobiana del extracto y su potencial aplicación en el control de otras bacterias orales.
- Sería útil investigar los componentes activos presentes en el extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* mediante técnicas avanzadas de análisis fitoquímico. Identificar y cuantificar los compuestos bioactivos proporcionará información importante sobre los mecanismos de acción responsables de la actividad antibacteriana observada.
- Se recomienda realizar estudios in vivo utilizando modelos animales para evaluar la eficacia y seguridad del extracto etanólico de semillas de *Vitis vinífera* en la reducción de la colonización bacteriana oral. Estos estudios van a permitir obtener datos más representativos de su potencial aplicación clínica. Llevarlo a la industria farmacéutica como alternativa para la formulación de diferentes formas farmacéuticas como activo o excipientes en pastas dentales, colutorios entre otros.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cheng L, Zhang L, Yue L, Ling J, Fan M, Yang D, et al. Expert consensus on dental caries management. *Int J Oral Sci.* 2022;14(1):1–10.
2. Chen Z, Zhang L. Caries treatment planning based on caries risk assessment. *Chinese J Stomatol.* 2021;56(1):45–50.
3. Uribe S et al. The global prevalence of early childhood caries: A systematic review with meta-analysis using the WHO diagnostic criteria. *Int J Paediatr Dent* [Internet]. 2021;31(6):817–30. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ipd.12783>
4. Kapellas K y RK. National Study of Adult Oral Health 2017–18: root caries. *Aust Dent J* [Internet]. 2020;65(1):40–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32583586/>
5. Suzuki S, et al. Reasons for Tooth Extractions in Japan: The Second Nationwide Survey. *Int Dent J* [Internet]. 2022;72(3):366–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34193342/>
6. Organizacion Mundial de la Salud. La OMS y Harvard unidos para mejorar la salud bucal en África [Internet]. 29 Junio 2021. 2021. p. 2. Available from: <https://www.odontologia33.com/actualidad/internacional/7488/la-oms-y-harvard-unidos-para-mejorar-la-salud-bucal-en-africa.html>
7. Chan A, et al. A systematic review on caries status of older adults. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2021;18(20):1–15. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34682414/>
8. Rozier G, et al. Trends in Oral Diseases in the U.S. Population. *J Dent Educ* [Internet]. 2017;81(8):97–109. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28765461/>
9. León J et al. Planes, políticas públicas y estrategias de salud bucal en Latinoamérica y el Caribe (1991-2018). *Rev Cubana Estomatol* [Internet]. 2021;58(2):3175–88. Available from: <https://revestomatologia.sld.cu/index.php/est/article/view/3175/1896>
10. Taboada O, y Rodríguez K. Prevalencia de placa dentobacteriana y caries dental en el primer molar permanente en una población escolar del sur de la

- Ciudad de México. Bol Med Hosp Infant Mex [Internet]. 2018;75(2):113–8. Available from: <https://www.scielo.org.mx/pdf/bmim/v75n2/1665-1146-bmim-75-02-113.pdf>
11. Ojeda C, y Dávila K. Prevalencia de caries dental en niños de la Clínica Estomatológica de la Universidad de Señor de Sipán. Rev Salud Vida Sipanense [Internet]. 2017;4(2):14–9. Available from: <https://revistas.uss.edu.pe/index.php/SVS/article/view/696>
  12. Galecio R, y Rojas S. Impacto de la caries dental en la calidad de vida de escolares del distrito La Victoria. Lambayeque, Perú. Odontol Pediatr [Internet]. 2018;17(2):24–31. Available from: <https://op.spo.com.pe/index.php/odontologiapediatrica/article/view/4>
  13. Pesaressi E et al. Caries dental en niños prescolares de 3 años en Lima-Perú evaluados con el instrumento CAST. Acta Odontol Latinoam [Internet]. 2020;33(2):90–7. Available from: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1852-48342020000200090&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1852-48342020000200090&script=sci_arttext&tlng=en)
  14. Aquino C et al. Prevalencia , Experiencia y Significancia de caries dental en escolares de Cutervo-Perú. Rev OACTIVA [Internet]. 2018;3(2):21–4. Available from: <https://oactiva.ucacue.edu.ec/index.php/oactiva/article/view/219>
  15. Bhatia P, Sharma A, George A, Anvitha D, Kumar P, Dwivedi V, et al. Antibacterial activity of medicinal plants against ESKAPE: An update. Heliyon. 2021;7(2):1–10.
  16. Pavić V, Kujundžić T, Kopic M, Jukić V, Braun U, Schwander FDM. Effects of Defoliation on Phenolic Concentrations, Antioxidant and Antibacterial Activity of Grape Skin Extracts of the Varieties Blaufränkisch and Merlot (*Vitis vinifera* L.). Molecules. 2019;24(13):1–10.
  17. Shanmugam K et al. Guardian genes ensuring subsistence of oral *Streptococcus mutans*. Crit Rev Microbiol [Internet]. 2020;46(4):475–91. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32720594/>
  18. Tubon I et al. Efectos del uso de la Uva (*Vitis vinífera*) en recubrimientos comestibles y odontología: una revisión bibliográfica. Rev Científica Higía la Salud [Internet]. 2022;7(2):1–14. Available from: <https://revistas.itsup.edu.ec/index.php/Higia/article/view/726/1474>

19. Ivanov D et al. Antimicrobial Potential, Antioxidant Activity, and Phenolic Content of Grape Seed Extracts from Four Grape Varieties. *Microorganisms* [Internet]. 2023;11(2):1–15. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/2/395>
20. Cotea L et al. Antioxidant and antimicrobial effects of grape pomace extracts. *BIO Web Conf* [Internet]. 2019;15(42):1–6. Available from: [https://www.bioconferences.org/articles/bioconf/full\\_html/2019/04/bioconf-oiv2019\\_04006/bioconf-oiv2019\\_04006.html](https://www.bioconferences.org/articles/bioconf/full_html/2019/04/bioconf-oiv2019_04006/bioconf-oiv2019_04006.html)
21. Radulescu C et al. Phytochemical Profiles, Antioxidant and Antibacterial Activities of Grape ( *Vitis vinifera* L.) Seeds and Skin from Organic and Conventional Vineyards. *Plants* [Internet]. 2020;9(11):1–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33143382/>
22. Caicedo J et al. Efecto antimicrobiano de extractos acuosos de la cáscara, pulpa y semilla de uva (*vitis vinifera*) sobre *streptococcus mutans*, estudio in vitro. *KIRU* [Internet]. 2018;15(2):1–4. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/327563421\\_Efecto\\_antimicrobiano\\_de\\_extractos\\_acuosos\\_de\\_la\\_cascara\\_pulpa\\_y\\_semilla\\_de\\_uva\\_vitis\\_vinifera\\_sobre\\_streptococcus\\_mutans\\_estudio\\_in\\_vitro](https://www.researchgate.net/publication/327563421_Efecto_antimicrobiano_de_extractos_acuosos_de_la_cascara_pulpa_y_semilla_de_uva_vitis_vinifera_sobre_streptococcus_mutans_estudio_in_vitro)
23. Rodriguez D. Efecto antibacteriano del extracto hidroetanólico de las semillas de *Vitis vinífera* (uva) y *Vaccinium corymbosum* (arándano) frente a *Streptococcus mutans* ATCC 25175, TRUJILLO-2019 [Internet]. [Tesis de bachiller] Universidad Católica Los Ángeles Chimbote; 2022. Available from: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/28187>
24. Villanueva J. Sinergia bactericida del extracto etanólico de *Vitis vinífera* con oxacilina sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in vitro [Internet]. [Tesis de bachiller] Universidad César Vallejo; 2020. Available from: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/60278>
25. Tubon I et al. Efectos del uso de la Uva (*Vitis vinífera*) en recubrimientos comestibles y odontología: una revisión bibliográfica. *Rev Científica Higía la Salud*. 2022;7(2):1–14.
26. Hernandez R, Mendoza C. *Metodología de la Investigación*. Ciudad de México: Mc Graw Hill; 2018. 714 p.
27. Baena G. *Metodología de la Investigación*. 3 ed. Grupo Editorial Patria; 2017. 141 p.

28. Hernández, R. Fernández, C. y Baptista P. Metodología de la investigación. 5th ed. Buenos aires: McGraw-Hill; 2010.
29. Cegarra J. Metodología de la investigación científica y tecnológica. 1st ed. Madrid: Diaz de Santos; 2004. 372 p.
30. Ioachimescu O. Metodología de la investigación médica, ¿A dónde vas? J Investig Med [Internet]. 2021;69(1):2–3. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33318056/>
31. Escobar L. Efecto antibacteriano in vitro de extracto etanólico de los frutos de *Vaccinium corymbosum* (arándano) y *Vaccinium floribundum* (Mullaca) sobre *Staphylococcus aureus*. Universidad Católica los Ángeles - Chimbote; 2020.
32. Haghgoo R, Mehran M, Zadeh H. Comparison between antibacterial effect of chlorhexidine 0.2% and different concentrations of cyperus rotundus extract: An in vitro study. J Int Soc Prev Community Dent. 2017;7(5):242–6.
33. Gallardo E. Metodologia de la Investigacion. 1 ed. Huancayo: Universidad Continental; 2017. 96 p.
34. Torres, D. & Normando D. Metodología de la investigación Bioestadística: conceptos esenciales para el clínico. Dental Press J Orthod [Internet]. 2021;26(1):1–26. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33729294/>
35. Valenzuela C, Gongora N, Dueñas M, Velazquez L, Ramos A, Valenzuela N. Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda. Rev Colomb Cienc Quím Farm [Internet]. 2019;48(1):94–111. Available from: <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80068>
36. 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/>
37. Lock O. Investigacion fitoquimica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad catolica del Perú; 2016. 287 p.
38. 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](https://www.microbiologics.com/core/media/media.nl?id=516&c=915960&h=be1fe2eebf3be3ec26d4&_xt=.pdf)

39. 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>
40. Oficina ejecutiva de investigación. Manual de procedimientos de ensayos clínicos. N° 279-2017-J-OPE/INS Perú: Ministerio de salud; 2017 p. 118.
41. Ma Z, Zhang H. Phytochemical Constituents, Health Benefits, and Industrial Applications of Grape Seeds: A Mini-Review. Antioxidants (Basel). 2017;6(3):1–10.

## ANEXOS

### ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos

#### 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: (+++)

#### PRUEBA DE TAMIZAJE FITOQUÍMICO

IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS		
Metabolitos secundarios	Reactivos	Resultado
Quinonas	Borntrager	
Compuestos fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	
Flavonoides	Shinoda	
Antocianinas	NaOH 10%	
Taninos	Gelatina	
Taninos	Gelatina Sal	
Alcaloides	Dragendorff	
Alcaloides	Wagner	
Alcaloides	Mayer	
Triterpenos y Esteroides	Liebermann Burchard	
Lactonas $\alpha$ , $\beta$ insaturadas	Baljet	
Saponinas	Espuma	

Leyenda: (-) Ausente. (+) Escaso. (++) Leve. (+++) Moderado

**ENSAYO MICROBIOLÓGICO**

<b>N°</b>	<b>Frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175</b>				
	<b>Etanol 70°</b>	<b>Clorhexidina</b>	<b>Ext 25 %</b>	<b>Ext 50 %</b>	<b>Ext 75 %</b>
<b>1</b>					
<b>2</b>					
<b>3</b>					
<b>4</b>					
<b>5</b>					
<b>6</b>					
<b>7</b>					
<b>8</b>					
<b>9</b>					
<b>10</b>					

## ANEXO B. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
¿Evaluar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	El extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) presenta actividad antibacteriana in vitro frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
¿Qué tipo de metabolitos secundarios responsables del efecto antibacteriano in vitro posee el extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva)?	Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) responsables del efecto antibacteriano in vitro	El extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) posee metabolitos secundarios de tipo flavonoides, alcaloides, compuestos fenólicos, taninos y antraquinonas responsables del efecto antibacteriano in vitro
¿Evaluar que concentración del extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) presenta efecto antibacteriano in vitro frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Determinar a qué concentración el extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) presenta efecto antibacteriano in vitro frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	El extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (uva) tiene efecto antibacteriano in vitro a concentraciones del 25%, 50% y 75% frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175.
¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) comparado con clorhexidina frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175?	Comparar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) con clorhexidina frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	El efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (Uva) es significativamente mayor comparado con clorhexidina frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175

### ANEXO C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto etanólico de semillas de <i>Vitis vinífera</i> (UVA)	Fitoquímica	Marcha fitoquímica	Ordinal	14	(-) Ausente (+) Leve (++) Moderado (+++) Abundante
VARIABLE DEPENDIENTE Efecto antibacteriano in vitro frente <i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	Microbiológico (Método de difusión en agar)	Medición de diámetro inhibición (mm)	Razón	10	<8 mm: nulo (-) 8 – 14 mm: Sensible (+) 14 – 20 mm: Muy sensible (++) >20 mm: Sumamente sensible (+++)

## ANEXO D. 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 N.º 0311-2013-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

#### CERTIFICA:

Que, las Bachilleres GONZALES RAMIREZ, JANET y VALLADARES VARGAS, LUCIA, tesistas de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela 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 *Vitis vinifera* (UVA) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175, han solicitado la identificación y certificación botánica de la planta cultivada con el nombre común de "UVA", la muestra de hojas ha sido identificada como *Vitis vinifera* L. Según la base de datos de W<sup>3</sup>Tropicos del Missouri Botanical Garden que sigue el sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, el sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. - Mark W. Chase & James L. Reveal (2009 – APG III) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de la base de W<sup>3</sup>Tropicos, APG III y APG IV, la especie identificada tiene las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae  
División: Angiospermae  
Clase: Equisetopsida  
Subclase: Magnoliidae  
Superorden: Rosanae  
Orden: Vitales  
Familia: Vitaceae  
Género: *Vitis*  
Especie: *Vitis vinifera* L.

Variedad agronómica: uva borgoña

Nombre vulgar: "uva"

Se expide la presente certificación para los fines de investigación.

Lima, 10 de junio del 2023



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

## ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio



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

### Informe de Resultados

Solicitado por: GONZALES RAMIREZ, JANET  
VALLADARES VARGAS, LUCIA  
Muestra: ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Vitis vinifera* (UVA)  
Fecha de ensayo: 01-07-2023

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	75%	50%	25%	Clorhexidina	DMSO
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	12.70	10.41	9.21	18.80	6
	12.69	10.39	9.23	18.84	6
	12.67	10.37	9.21	18.89	6
	12.68	10.40	9.23	19.06	6
	12.71	10.41	9.28	19.10	6
	12.66	10.38	9.21	18.88	6
	12.68	10.40	9.22	18.82	6
	12.68	10.39	9.23	18.80	6
	12.67	10.39	9.22	18.86	6
	12.70	10.40	9.24	18.84	6

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

\*Concentración del inóculo:  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL



Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez  
CTMP. 10808

## ANEXO F. Certificado de Agar Mueller Hinton



Certified : ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , WHO GMP

**HiMedia Laboratories Private Limited**  
23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,  
Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,  
Email : info@himedialabs.com

### Certificate of Analysis, Quality and Conformity

<b>Material Code :</b> M173	<b>Material Name :</b> Mueller Hinton Agar	<b>Lot No :</b> 0000357521
<b>Report No.:</b> 040000849057	<b>Date of Release &amp; Report :</b> 2018-09-24	<b>Expiry Date :</b> 2023-09

#### Appearance

Cream to yellow homogeneous free flowing powder . Observed : Light yellow

#### Gelling

Firm, comparable with 1.7% agar gel.

#### Colour and Clarity of prepared medium

Light amber coloured clear to slight opalescent gel forms in Petri plates.

#### Reaction

Reaction of 3.8% w/v aqueous solution at 25°C.

#### pH

pH Range :7.20-7.40 Observed : 7.39

#### Cultural Response

Cultural characteristics observed after incubation at 30-35°C for 18 -24 hours for bacterial cultures. For testing *S.pneumoniae* : The medium was supplemented with 5% Sheep blood and incubated at 35°C for 16-18 hours at 5% CO<sub>2</sub> For testing *H.influenaze* : Yeast extract & 2 vials /l of Haemophilus Growth Supplement (FD117 containing 15 mg/l of Haematin + 15 mg/l of NAD) and incubated at 35°C for 20-24 hours at 5% CO<sub>2</sub>

#### Antibiotic Sensitivity test

Various discs were tested for standard ATCC strains and zone of inhibition were measured after an incubation 30-35°C for 18 hours. (As per the latest CLSI Protocol M6 & Standards as per the current CLSI M100)

#### Thymine/Thymidine Content

# The zones for these discs are indicative of the Thymine/Thymidine content of the medium.

#### Divalent Cation Content

\* The zones for these discs are indicative of the Divalent Cation content of the medium

Organism	Inoculum (CFU)	Growth	Observed Lot value (CFU)	Recovery	Standard Zone	Zone of inhibition Observed
<b>Escherichia coli ATCC 25922</b>						
<i>Growth promoting</i>	85	luxuriant	72	84%	-	-
<i>Amoxyclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	22mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	16-22 mm	21mm
<i>Cefotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	29-35 mm	33mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	15-21 mm	20mm

**HiMedia Laboratories Private Limited**  
 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,  
 Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,  
 Email : info@himedialabs.com

**Certificate of Analysis, Quality and Conformity**

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name : Mueller Hinton Agar</b>	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No.: 040000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

<i>Chloramphenicol C 30 mcg</i>	-	-	-	-	21-27 mm	26mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	30-40 mm	38mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg</i>	-	-	-	-	19-26 mm	24mm
<i>Sulphafurazole SF 300 mcg</i>	-	-	-	-	15-23 mm	21mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-25 mm	24mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	23-29 mm	28mm

**Staphylococcus aureus ATCC 25923**

<i>Growth promoting</i>	76	luxuriant	64	84%	-	-
<i>Amoxclav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	28-36 mm	35mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	36mm
<i>Cephalothin CEP 30mcg</i>	-	-	-	-	29-37 mm	35mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	29mm
<i>Erythromycin E 15 mcg</i>	-	-	-	-	22-30 mm	28mm
<i>Linezolid LZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	25-32 mm	31mm
<i>Oxacillin OX 1mcg</i>	-	-	-	-	18-24 mm	23mm
<i>Pristinomycin RP 15 mcg</i>	-	-	-	-	21-28 mm	27mm
<i>Tetracycline TE 30 mcg *</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-21 mm	20mm
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	24-32 mm	31mm
<i>Cefoxitin CX 30 mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm

**Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

<i>Growth promoting</i>	83	luxuriant	71	85%	-	-
<i>Amikacin AK 30 mcg *</i>	-	-	-	-	18-26 mm	25mm
<i>Aztreonam AT 3mcg</i>	-	-	-	-	23-29 mm	27mm
<i>Cephotaxime CTX 30 mcg</i>	-	-	-	-	18-22 mm	21mm
<i>Cefazidime CAZ 30 mcg</i>	-	-	-	-	22-29 mm	27mm
<i>Ciprofloxacin CIP 5mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	31mm
<i>Gentamicin GEN 10 mcg *</i>	-	-	-	-	16-21 mm	20mm
<i>Imipenem IPM 10 mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	25-33 mm	31mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	20-28 mm	27mm
<i>Tobramycin TOB 10 mcg *</i>	-	-	-	-	19-25 mm	23mm

**Escherichia coli ATCC 35218**

**HiMedia Laboratories Private Limited**

 23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,  
 Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,  
 Email : info@himedialabs.com

**Certificate of Analysis, Quality and Conformity**

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name : Mueller Hinton Agar</b>	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No.: 040000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

<i>Growth promoting</i>	75	luxuriant	63	84%	-	-
<i>Amoxycylav AMC 30 mcg</i>	-	-	-	-	17-22 mm	21mm
<i>Ampicillin AMP 10 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ampicillin/Sulbactam A/S 10/10 mcg</i>	-	-	-	-	13-19 mm	18mm
<i>Piperacillin PI 100 mcg</i>	-	-	-	-	12-18 mm	16mm
<i>Piperacillin/Tazobactam PTT 100/10 mcg</i>	-	-	-	-	24-30 mm	29mm
<i>Ticarcillin TI 75 mcg</i>	-	-	-	-	6 mm	6mm
<i>Ticarcillin/Clavulanic acid TCC 75/10mcg</i>	-	-	-	-	21-25 mm	23mm
<b>Enterococcus faecalis ATCC 29212</b>						
<i>Growth promoting</i>	69	luxuriant	58	84%	-	-
<i>Co-Trimoxazole COT 25 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm (Clear zone)	23mm
<i>Trimethoprim TR 5 mcg #</i>	-	-	-	-	# 20 mm	21mm
<i>Vancomycin VA 30 mcg</i>	-	-	-	-	# 17 mm	22mm
<b>Staphylococcus aureus ATCC 43300 (MRSA)</b>						
<i>Growth promoting</i>	88	luxuriant	76	86%	-	-
<i>Oxacillin OX 1 mcg</i>	-	-	-	-	Very Hazy to No Zone	No zone
<b>Sterptococcus pneumoniae ATCC 49619 (On Medium with 5% Sheep Blood)</b>						
<i>Growth promoting</i>	80	luxuriant	69	86%	-	-
<b>Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226 (Incubated w/5% CO2)</b>						
<i>Growth promoting</i>	71	luxuriant	63	88%	-	-
<b>Haemophilus influenzae ATCC 49247 (On medium w/ Y.E.,NAD &amp; Hematin)</b>						
<i>Growth promoting</i>	84	luxuriant	72	85%	-	-

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

**Control Media :**

- . For Bacteria : Soyabean Casein Digest Agar / Columbia Blood Agar base enriched with 5% v/v Sheep/Horse blood.
- . For Yeast & Mold : Sabouraud Dextrose Agar.

- . All ISO 11133 : 2014( E ) control strains are included in the Quality parameter
- . HiMedia Laboratories Pvt Ltd is Certified for ISO 9001:2015, ISO 13485:2012 , WHO GMP

**HiMedia Laboratories Private Limited**

23, Vadhani Industrial Estate, L.B.S. Marg,  
Mumbai - 400086 , Website : www.himedialabs.com,  
Email : info@himedialabs.com

**Certificate of Analysis, Quality and Conformity**

<b>Material Code : M173</b>	<b>Material Name : Mueller Hinton Agar</b>	<b>Lot No : 0000357521</b>
<b>Report No.: 040000849057</b>	<b>Date of Release &amp; Report : 2018-09-24</b>	<b>Expiry Date : 2023-09</b>

. Information for BSE/TSE Risk: The material was subjected to pH  $\leq$  7.0 and/or a temperature in excess of 75°C for no less than 2 hours during the manufacturing process. The bovine raw material for this product was collected entirely from Indian Origin animals in a licensed based establishment. The animals are inspected under a Govt. approved veterinarian's supervision and were apparently free from infectious and contagious diseases. BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy)/ TSE (Transmissible Spongiform Encephalopathy) and dioxine are not known to exist in India. This material does not contain, nor is derived from the specific risks material as defined in The Maharashtra Animal Preservation Act Govt. of Maharashtra, India.

**STATUS OF THE MATERIAL : APPROVED**

This is to certify that this lot passes and it confirms to the above mentioned tests and specifications . The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particulars use, other than that specified in the current HiMedia manual or product sheets. The results reported were obtained at the time of release.

**This document has been produced electronically and is valid**



Sheetal Shewale  
Microbiologist/Sr.Executive  
Microbiologist



Ushala M. Kokate  
Asst./Dy/QC Manager



Dr. Santosh Kaul  
Dy/QA Manager

24.09.2018

# ANEXO G. Certificado de análisis de Cepa *Streptococcus mutans* ATCC 25175



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Streptococcus mutans</i> Catalog Number: 0266 Lot Number: 266-34** Reference Number: ATCC® 25175™* Passage from Reference: 2	Expiration Date: 2023/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Madison C Vogt Release Date: 2021/9/16
--	---

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types; small, circular, dome shaped, entire edge, white and the other is small, circular and translucent.	<b>Medium:</b> SBAP
<b>Microscopic Features:</b> Small gram positive cocci to ovoid cells occurring singly, in pairs and predominately in chains	<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) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): negative   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*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.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) 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.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.



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

Run Creation Date/Time: 2021-09-15T11:17:25.874 MCV

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

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
D10 (+++) (A)	266-34	Streptococcus mutans	2.05

Comments:

N/A

## ANEXO H. Evidencias fotográficas

### TRATAMIENTO DE LA MUESTRA



**Figura 1 . Muestra de tipo Semillas *Vitis vinífera* (uva)**



**Figura 2. Lavado de la muestra**



**Figura 3. Selección de la muestra**



**Figura 4. Extracción de semillas**



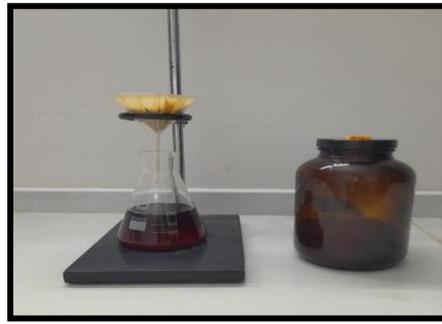
**Figura 5. Procedimiento de secado de la muestra**



**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**

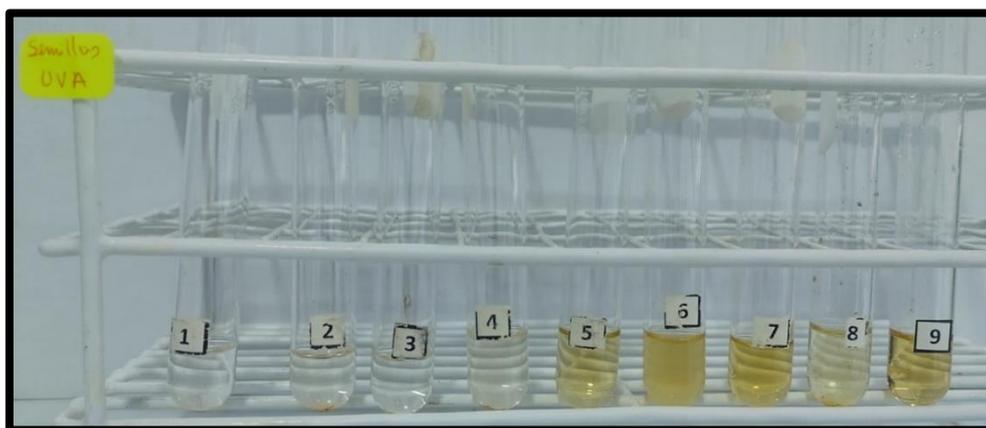


**Figura 9. Obtención de extracto seco**

## PRUEBA DE SOLUBILIDAD



**Figura 10. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad**



**Figura 11. Resultado de prueba de solubilidad**

## MARCHA FITOQUÍMICA



**Figura 12. Adición de extracto a los tubos de ensayo**



**Figura 13. Resultado de la marcha fitoquímica**

## ENSAYO MICROBIOLÓGICO



**Figura 14. Pesando del Agar**



**Figura 15. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica**



**Figura 16. Agar Mueller Hinton**

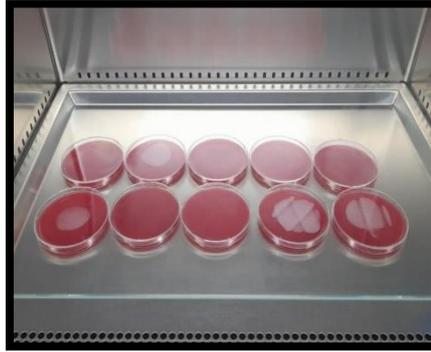


Figura 17. Placas preparadas



Figura 18. Cepa biológica de tipo:  
*Streptococcus mutans* ATCC 25175

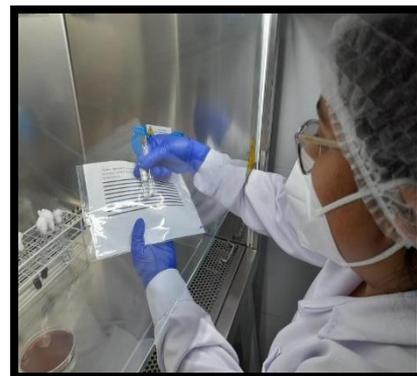
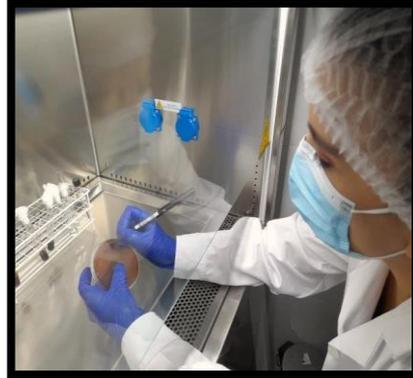


Figura 19. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mc.  
Farland



**Figura 20. Rotulado de placas**



**Figura 21. Sembrado de la cepa biológicas en las placas**



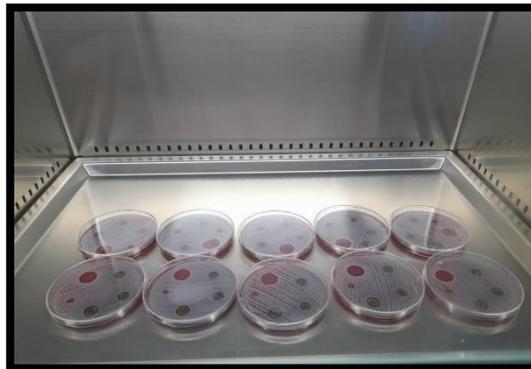
**Figura 22. Efectuando pozos en agar con ayuda de un sacabocado**



**Figura 23. Sustancias experimentales y controles**



**Figura 24. Incubación de *Streptococcus mutans* ATCC 25175**



**Figura 25. Placas Petri con halos de inhibición**

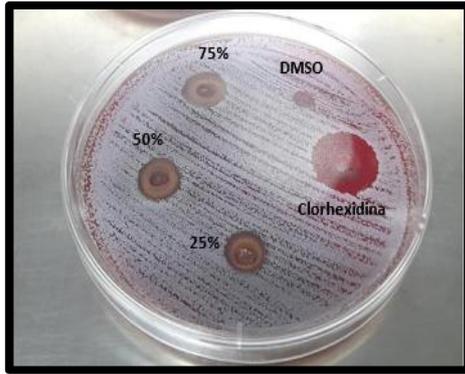


Figura 26. Lectura de resultados



Figura 27. Lectura de resultados

## ANEXO I. Porcentaje de rendimiento

### 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

$$\%E = \frac{12.6 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 100 = 6.3\%$$

Pf= 12.6 gr extracto seco obtenido

Pi = 200 gr. muestra molida

## ANEXO J. Carta de autorización para la recolección de la muestra

### CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Yo, Juan Pablo Quispe Abalos.....con D.N.I. 15415106..... en calidad de responsable Pequeño fundo La Caida..... ubicado en el distrito de Santa Cruz de Flores, provincia de Cañete y departamento de Lima.

Autorizo a los estudiantes de la **Universidad María Auxiliadora**, de la facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**, **Bach. GONZALES RAMIREZ, JANET PILAR** y **Bach. VALLADARES VARGAS, LUCIA**, con título de proyecto de investigación, **"EFECTO ANTIBACTERIANO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE SEMILLAS DE *Vitis vinifera* (UVA) SOBRE *Streptococcus mutans* ATCC 25175"**, para que puedan recolectar la muestra correspondiente

**Santa Cruz de Flores, 02 de junio del 2023**

  
.....  
**Firma**