



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

EFFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS EXTRACTOS
ETANÓLICO Y ACUOSO DE *Mentha spicata* L. “HIERBA
BUENA” SOBRE *Staphylococcus aureus*

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORES:

BACH. FERNÁNDEZ PÉREZ, GEOVANNA VERONIKA

BACH. PERALES CORREA, KARINA NOELY

ASESOR:

Mg. Q.F. HERNÁNDEZ GUERRA, REYNA EMPERATRIZ

LIMA – PERÚ

2021

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación se la dedico en primer lugar a Dios, por darme la sabiduría y fuerza necesaria para lograr este anhelo deseado y trazado en mi vida.

A mi madre, por la dedicación que siempre ha tenido conmigo, por su amor, apoyo y tolerancia constante

A mi amado esposo, que con amor y apoyo incondicional siempre estuvo presente cuando lo necesite para ayudarme a culminar mi carrera profesional.

Geovanna Veronika Fernández Pérez

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación se lo dedico en primer lugar a Dios, por darme la sabiduría y fuerza necesaria para lograr este anhelo deseado y trazado en mi vida.

A mis hijos, padres y esposo que son la fuerza para poder culminar mi carrera y realizar mi trabajo de investigación.

Karina Noely Perales Correa

Agradecimiento

*Agradecemos a Dios por estar
presente en nuestras vidas
brindándonos salud y conocimiento,
para lograr la meta trazada.*

*A nuestra madre y esposa, por estar
siempre presente en los momentos más
difíciles de nuestra carrera,
brindándonos su apoyo, confianza y
paciencia en este gran logro.*

*Finalmente agradecer de manera
especial a nuestros docentes por
brindarnos su apoyo, enseñanza y
conocimiento a lo largo de nuestra
carrera profesional y tesis de
investigación.*

Índice general

Resumen	ixx
Abstract	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	6
2.1 Enfoque y diseño de investigación	
2.2 Población, muestra y muestreo	
2.3 Variables de investigación	
2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos	
2.5 Plan de recolección de datos	
2.6. Métodos de análisis estadísticos	
2.7 Aspectos éticos	
III. RESULTADOS	10
IV. DISCUSIÓN	15
4.1. Discusión de resultados	
4.2. Conclusiones	
4.3. Recomendaciones	
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
ANEXOS	23

Índice de Tablas

Tabla 1. Diámetros de la zona de inhibición de los extractos acuosos	10
Tabla 2. Diámetros de la zona de inhibición de los extractos etanólicos.....	11
Tabla 3. Prueba de Normalidad realizada para los grupos de trabajo.....	12
Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianzas	12
Tabla 5. Prueba de Tukey para los grupos de trabajo.....	13

Índice de Figuras

Figura 1. Gráfico de medias de los grupos de análisis.....	14
Figura 2. Preparación de los macerados de hojas	29
Figura 3. Filtrado de los macerados de hojas de	29
Figura 4. Evaporación de los filtrados de Mentha	29
Figura 5. Pesada de los extractos de Mentha spicata L. “Hierba buena	29
Figura 6. Preparación de los extractos de Mentha spicata L.....	30
Figura 7. Activación de Staphylococcus aureus	30
Figura 8. Incubación de Staphylococcus	30
Figura 9. Preparación del inóculo de trabajo	30
Figura 10. Preparación de discos con extractos de.....	31
Figura 11. Aplicación de los discos en medios de cultivo.....	31
Figura 12. Incubación de placas.....	31
Figura 13. Medición de los halos de inhibición	31
Figura 14. Formación de halos de inhibición	31

Índice de Anexos

Anexo A. Operacionalización de variables	24
Anexo B. Instrumentos de recolección de datos	25
Anexo C. Identificación taxonómica de <i>Mentha spicata</i> L. “Hierba buena”	26
Anexo D. Certificado de análisis de la cepa	27
Anexo E. Evidencias de campo.....	29
Anexo F. Carta de autorización del propietario del terreno de cultivo	32

Resumen

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el efecto antibacteriano de los extractos de *Mentha spicata* L. "Hierba buena" sobre *Staphylococcus aureus*. Para el estudio se obtuvo los extractos acuoso y etanólico de la planta, se pesó y trituró 300g. de las hojas y se puso en maceración por 24 horas, luego se filtró y se obtuvieron los extractos los cuales se prepararon al 100%, 75% y 50% de concentración. La determinación del efecto antibacteriano se obtuvo mediante el método de difusión de disco en agar o Kirby Bauer, se colocó 10ul de cada extracto en discos de 6 mm y se recolecto los datos de los halos producidos. En los resultados no se encontraron efecto antibacteriano de los extractos acuosos, sin embargo, los extractos etanólicos presentaron halo de inhibición de $19,76 \pm 0,33$; $18,35 \pm 0,34$ y $17,55 \pm 0,33$ para las concentraciones del 100%, 75% y 50% respectivamente, los análisis de los datos se realizaron mediante estadísticas descriptivas, pruebas de normalidad y la prueba de Tukey. Se concluye que el extracto acuoso de *Mentha spicata* L. "Hierba buena" no presenta efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, pero, el extracto etanólico sí presenta efecto antibacteriano.

Abstract

This research aims to determine the antibacterial effect of the extracts of *Mentha spicata* L. "Hierba buena" on *Staphylococcus aureus*. For the analysis, we had gotten the aqueous and ethanolic extracts of the plant; It was weighed and crushed 300g. of the leaves and It was macerated for 24 hours. Then It was filtered and obtained the extracts which were prepared at 100%, 75% and 50% of it. The determination of the antibacterial effect was achieved by the method of diffusion of disc in agar or Kirby Bauer, 10ul of each extract was placed in 6mm discs and the size of the halos produced on the plates with *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. In the results no antibacterial effect of the aqueous extracts was found, however the ethanolic extracts found halo of inhibition of $19.76 + 0.33$; $18.35 + 0.34$ and $17.55 + 0.33$ for measurements of 100%, 75% and 50% respectively, in data analysis were performed using descriptive statistics, normality tests and the Tukey test. In conclusion, the aqueous extract of *Mentha spicata* L. "Good herb" has no antibacterial effect on *Staphylococcus aureus*; nonetheless the ethanolic extract does have an antibacterial effect on this strain.

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones bacterianas son causadas por microorganismos de tamaño microscópico, unicelulares y sin núcleo, estos viven en todo tipo de ambientes. Muchas bacterias no causan ningún daño y solo algunos tipos de bacterias causan o provocan enfermedades mediante la producción de toxinas como *Staphylococcus aureus*, además de producir resistencia bacteriana¹.

Los datos reportados por la Organización Mundial de la Salud (2018) sobre resistencia a los antibióticos indican elevados niveles de resistencia en algunas bacterias, siendo igual en los países de altos y bajos ingresos económicos. Las bacterias que causan resistencia comúnmente son *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, y *Escherichia coli* seguidas de *Salmonella spp*².

El tratamiento farmacológico a nivel mundial se ve afectado en su eficacia debido a la resistencia a los antimicrobianos. Cada año, 480000 personas presentan tuberculosis multirresistente, así mismo, el tratamiento contra el paludismo y VIH empieza a complicarse por la resistencia frente a los antimicrobianos, del mismo modo aumenta el costo del tratamiento sanitario.³

En Suecia, Noruega, Australia, Austria, Canadá, Eslovenia, Reino Unido, Japón, Sudáfrica, y Francia se han reportado casos en los que ha fracasado el tratamiento contra la gonorrea⁴.

Staphylococcus aureus es el agente que causa infecciones graves en centros sanitarios y la comunidad, este microorganismo está presentando resistencia generalizada al tratamiento antibiótico. Existen datos que indican que las personas que sufren de infección por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina tienen 64% más probabilidad de morir⁵.

En el Perú el 50% de *Staphylococcus aureus* que fueron aislados de varios hemocultivos durante 2008 – 2009, presentaron resistencia a meticilina, no obstante, desde los años 90 ya se han reportado casos de resistencia a la meticilina⁶.

En Lambayeque la proporción de resistencia microbiana de la Oxacilina fue de 71.7% en pacientes hospitalizados, a la eritromicina fue de 73.1% y gentamicina fue de 67.4%⁷.

La resistencia bacteriana se ha convertido en un problema importante de salud pública, ya que provoca la ineficacia de los tratamientos farmacológicos, en ese sentido es necesario encontrar alternativas antimicrobianas que no promuevan resistencia bacteriana y muestren efectividad en el tratamiento⁸.

A continuación, se presentan las bases teóricas que sustentan nuestra investigación, inicialmente detallaremos las características de la variable independiente y posteriormente la dependiente.

Mentha spicata L. es una hierba perenne estolonífera, muy aromática que presenta en su composición química aceite esencial (1 a 2%) rico en cineol, carvona, dihidrocarveol y trazas de mentol y otras sustancias como felandreno, alfa y delta-pineno, alcohol octílico y en algunas variedades dipenteno-cineol. Presenta, así mismo, aceites esenciales, derivados terpénicos, mucílagos, saponinas, safrol, taninos, y sales de calcio y potasio. A esta planta se le han atribuido propiedades digestivas a través de infusiones, antiespasmódicas, antiinflamatorias, estimulantes, estimulantes y antibacterianos⁹.

Una de las formas de determinar el efecto antibacteriano de las plantas es por medio de antibiogramas que son pruebas microbiológicas que se emplean para determinar la sensibilidad o resistencia a un grupo de antibióticos de una bacteria específica. Las técnicas de antibiograma son las utilizadas para estudiar la actividad de los antimicrobianos frente a los microorganismos responsables de las infecciones¹⁰.

El *Staphylococcus aureus* es una especie bacteriana integrada por formas cocáceas de 0,8-1,0 μm de diámetro, que se dividen en más de un plano, por lo que se agrupan irregularmente en racimos. Una característica muy importante de este germen es que sus toxinas pueden ser causa de intoxicación. En general, la presencia de un número elevado de *Staphylococcus aureus* es un reflejo de higiene defectuosa¹¹.

Figuerola M.¹² comparó el efecto antibacteriano del aceite esencial de *Mentha spicata* sobre *Escherichia coli* cepa 25922 con norfloxacino para lo cual empleó un diseño de estudio experimental; la población consistió en cepas de *Escherichia coli*. La actividad antimicrobiana se determinó por Kirby Bauer, las conclusiones del estudio refieren que *Mentha spicata* y norfloxacino presentan efecto antibacteriano sobre *Escherichia coli* cepa ATCC 25922, aunque no similares.

Por otro lado, el estudio realizado por Castro Y.¹³ no logró demostrar la eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de *Mentha piperita* "menta" Y *Rosmarinus officinalis* "romero", sobre *Staphylococcus aureus*, los aceites fueron obtenidos por el método de arrastre por vapor de agua.

López I., Morales P. y Ramírez M.¹⁴ realizaron un estudio comparativo del efecto inhibitorio de nanopartículas de plata estabilizadas con citrato y *Mentha spicata* sobre *Enterobacter cloacae*". Los resultados del estudio mostraron que las nanopartículas (NP's) de plata estabilizadas *Mentha spicata*, presentaron inhibición a una concentración 25 µg/mL y las NP's de plata estabilizadas con citrato presentaron inhibición a una concentración de 12.5 µg/mL ambas sobre la *E. cloacae*.

Esparadero et al.¹⁵ evaluó la actividad microbiológica y composición química de los extractos orgánicos de *Euphorbia aff. viridis* Boiss sobre *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*. Se realizó un estudio fitoquímico donde se analizaron saponinas, fenoles, lactonas, taninos, cumarinas, y flavonoides obteniéndose resultados positivos para todos. Se realizó la caracterización química con la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de Masas (GC-MS). En los resultados se observó 36,66 % de lanosterol, 12,25 % β-sitosterol, 5,11% 3 - β - colest - 4 - en - 3 - ol, 4,73 % ácido hexadecanoico.

Chrysarguris A. et al.¹⁶ evaluó la actividad antioxidante y antibacteriana de *Mentha spicata* al ser afectada por niveles de potasio (K) en el suelo de cultivo demostrando que la aplicación de K a cantidades elevadas, aumentó el contenido de polifenoles de la planta y la actividad antioxidante (DPPH, FRAP), mientras que K > 325 mg/L reveló estrés oxidativo (aumento de H₂O₂), seguido de la activación de enzimas antioxidantes (SOD, APX, CAT).

Horváth P. y Koščová J.¹⁷ determinaron el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de *Mentha piperita*, *Mentha arvensis* y *Mentha spicata* a las concentraciones de 1%, 0.5%, 0.25%, 0.125% y 0.0625% contra *Staphylococcus aureus* incluido el resistente a la meticilina (MRSA), las concentraciones más bajas inhibieron el crecimiento de *S. aureus* varió entre 0.125% y 0.125%.

Basados en la realidad problemática manifestada y, los antecedentes presentados, y su alarmante incremento de la resistencia bacteriana y la ineffectividad de los tratamientos a los antibióticos en especial de *Staphylococcus aureus*, microorganismo causante de las infecciones del ser humano que ocasiona problemas en el tratamiento, recuperación y costos de atención, hemos tomado en consideración la presente investigación, que busca aportar al conocimiento sobre la planta *Mentha spicata* L. “hierba buena”.

El estudio aportará al conocimiento sobre las propiedades antibacterianas de *Mentha spicata* L., identificará cuál de los extractos de esta planta presenta mayor efecto antibacteriano, ayudará a controlar las infecciones bacterianas producidas por *Staphylococcus aureus* de manera no farmacológica disminuyendo los riesgos de resistencia de esta bacteria, los resultados obtenidos permitirán controlar o disminuir los altos costos por tratamiento.

Así mismo, el estudio brindará soporte metodológico y se proyecta a tener una aplicación con un fin social en el campo de la salud, lo que representará en el futuro una alternativa en el tratamiento de infecciones producidas por *Staphylococcus aureus* y una herramienta para disminuir los índices de resistencia bacteriana de este microorganismo.

En este sentido, el objetivo del proyecto busca determinar el efecto antibacteriano “in vitro” de los extractos acuosos y etanólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena” sobre *Staphylococcus aureus*, del cual se han formulado los siguientes objetivos específicos:

- Determinar el efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Mentha spicata* L. “hierba buena” al 50%, 75% y 100% sobre *Staphylococcus aureus*.
- Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena” al 50%, 75% y 100% sobre *Staphylococcus aureus*.

- Comparar el efecto antibacteriano del extracto etanólico y acuoso de *Mentha spicata* L. “hierba buena” sobre *Staphylococcus aureus* con SMT+TMP

La hipótesis alterna planteada en la investigación confirma que los extractos de *Mentha spicata* L. “hierba buena” presentan efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, las hipótesis específicas se muestran a continuación:

- El extracto acuoso de *Mentha spicata* L. “hierba buena” a concentraciones del 50%, 75% y 100% presenta efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*
- El extracto etanólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena” a concentraciones del 50%, 75% y 100% presenta efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*
- El extracto etanólico y acuoso de *Mentha spicata* L. “hierba buena” presenta mayor efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* que SMP+TMP

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de investigación

La presente investigación presenta un enfoque cuantitativo, de diseño experimental y de corte transversal^{10,18}. Es experimental debido a que se manipula las variables en condiciones controladas de laboratorio con plena intervención del investigador y transversal debido a que se obtuvo y recolectó los datos en un determinado momento de la investigación.

2.2 Población, muestra y muestreo

La población estuvo conformada por *Mentha spicata* L. “hierba buena” recolectada en el distrito de Ferreñafe del departamento de Lambayeque y la cepa bacteriana de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

En cuanto a los criterios de inclusión que se tomaron en cuenta tenemos: La muestra vegetal se recolectó en buenas condiciones, fueron frescas y pertenecieron a la misma especie vegetal, no presentaron contaminación ni deterioro, en cuanto a la cepa microbiológica de *Staphylococcus aureus* contó con certificado de análisis ATCC 25923.

Se recolectó una cantidad de muestra de 1000 gramos del distrito de Ferreñafe ubicada a 6°39'20.7 de latitud Sur y 79°46'21.0 de longitud Oeste, el tipo de muestreo empleado fue del tipo no probabilístico por conveniencia.

2.3 Variables de investigación

La investigación presentó dos variables independientes, el extracto acuoso y extracto etanólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena”, la variable dependiente fue el efecto antibacteriano. Según la naturaleza del estudio las variables son cuantitativas con escala de medición de razón.

Definición conceptual: El efecto antibacteriano es la inhibición en el crecimiento o desarrollo normal de las bacterias ¹⁹.

Definición operacional: Diámetro del halo de inhibición producido al exponer la sustancia antibiótica frente a un medio con células bacterianas de *Staphylococcus aureus*.

2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos

La técnica empleada para la recolección de datos fue Kirby-Bauer mediante la medición del tamaño del halo de inhibición²⁰.

En cuanto al instrumento empleado para la recolección de datos fue el vernier digital y tabla de registro de datos.

2.5 Plan de recolección de datos

2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Se solicitó directamente los permisos a los agricultores de la zona de Ferreñafe del departamento de Lambayeque para la extracción de las muestras vegetales, así mismo, se llevaron dos muestras vegetales al herbario de la Universidad Pedro Ruiz Gallo para su identificación y conformidad taxonómica.

2.5.2. Recolección de la muestra vegetal

La muestra vegetal fue recolectada en el distrito de Ferreñafe, departamento de Lambayeque situado a 6°39'20.7 de latitud Sur y 79°46'21.0 de longitud Oeste

Se tomaron las muestras para el estudio taxonómico las que fueron extendidas en cartulina foldcote y adherida con papel pegatina, se colocó papel periódico sobre y debajo de las muestras y fueron prensadas por 7 días.

Se tomó aproximadamente 1000 gramos de hojas las que fueron lavadas y secadas al sol sobre papel periódico.

2.5.3. Identificación taxonómica de la muestra vegetal

Las muestras fueron prensadas, secadas y llevadas al herbario Pedro Ruiz Gallo de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo en el distrito de Lambayeque.

2.5.4. Preparación del extracto alcohólico y acuoso:

Se pesaron 300g de hojas secas de la muestra biológica, se trituraron y se le agregó 1000 ml de etanol de 96°, luego se le dejó macerar por 8 días. De igual manera se procedió a la obtención del extracto acuoso, pero solo se empleó agua destilada como solvente para la maceración.

2.5.5. Reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus*

La reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se realizó según la información técnica del catálogo de la empresa comercializadora de la cepa, manteniéndose el inóculo en agar TSA.

2.5.6. Sembrado en placa de cepa de *Staphylococcus aureus*:

Se realizó un sembrado en estrías en TSA, se llevó a incubación por 24 horas a 37°C.

2.5.7. Evaluación del efecto del extracto etanólico y acuoso de *Mentha spicata* L. “hierba buena”

- a) Con pinzas estériles se colocó en cada placa ocho (8) discos de papel de filtro de la manera siguiente:
 - 1 disco con 10 µl de alcohol etílico al 96% (control negativo) y un 1 disco con 10 µl de agua destilada (control negativo), según sea el caso.
 - 1 disco con SMT-TMP (control positivo).
 - 3 discos con 10 µl de extracto etanólico de *Mentha spicata* L. al 50%, 75% y 100%
 - 3 discos con 10 µl de extracto acuoso de *Mentha spicata* L. al 50%, 75% y 100%
- b) Las muestras se incubaron por 24 horas a 37°C
- c) Luego de esto se procedió a tomar las medidas directas de los halos de inhibición formados
- d) Se realizaron la lectura del tamaño de los halos de inhibición obtenidos mediante el vernier digital.
- e) Los datos fueron registrados en una tabla de registro según concentración y tipo de extracto

2.6. Métodos de análisis estadísticos

En el análisis estadístico se obtuvo la estadística descriptiva y se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov Smirnov y la prueba de homogeneidad de Levene a los datos obtenidos, posteriormente se realizaron las pruebas inferenciales para

determinar la aceptación o rechazo de la hipótesis alterna, mediante la prueba de Tukey con un nivel de significancia alfa de 0,05.

2.7 Aspectos éticos

En consideración al tipo de investigación se tomó en cuenta el aspecto bioético de no maleficencia.

En atención a este principio no se produjeron daño bajo cualquier circunstancia a ninguno de los integrantes del estudio o terceras personas, así mismo, se evitó el daño al medio ambiente tratando el material biocontaminado en autoclave para su eliminación posterior como norma de bioseguridad.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Diámetros (en milímetros) obtenidos de la zona de inhibición de los extractos acuosos de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” al 100%, 75% y 50% sobre *Staphylococcus aureus*

Placa	Porcentaje			Control Positivo	Control Negativo
	100%	75%	50%		
1	6,4	6,4	5,9	24,0	6,0
2	6,1	6,9	6,8	24,3	6,0
3	6,6	6,2	6,7	24,6	6,1
4	6,3	6,2	6,0	25,1	6,0
5	6,4	6,0	6,4	23,9	6,0
6	6,5	6,4	6,4	24,2	6,4
7	6,3	6,4	6,3	24,3	6,2
8	7,0	6,4	6,1	24,0	6,2
9	6,4	6,6	6,0	24,6	6,7
10	6,5	6,5	6,3	24,3	6,3
11	6,8	6,9	6,3	24,7	6,2
12	6,4	6,8	6,0	24,0	6,0
13	6,4	6,9	6,0	24,3	6,0
14	6,1	6,6	6,2	24,1	6,5
15	6,6	6,3	6,1	24,0	6,0
Media	6,44	6,22	6,03	24,29	6,04
Desv. Estándar	0,22	0,29	0,24	0,34	0,23

Fuente: Datos obtenidos por el investigador. 2020

En la **tabla 1**, se observa las medidas de los halos de inhibición producidos por el efecto antibacteriano de los extractos acuosos de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” al 100%, 75% y 50% sobre *Staphylococcus aureus*. Se encontró una media y desviación estándar de $6,44 \pm 0,22$; $6,22 \pm 0,29$ y $6,03 \pm 0,24$ para los extractos acuosos de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” al 100%, 75% y 50% respectivamente, estos resultados son similares a los valores encontrados con el Control Negativo (agua destilada) el cual fue de $6,04 \pm 0,23$.

Tabla 2. Diámetros (en milímetros) obtenidos de la zona de inhibición de los extractos etanólicos de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” al 100%, 75% y 50% sobre *Staphylococcus aureus*

Placa	Porcentaje			Blanco Positivo	Blanco Negativo
	100%	75%	50%		
1	19,4	18,5	17,7	24,0	6,0
2	20,2	17,9	17,5	24,3	6,0
3	20,1	18,5	17,5	24,6	6,1
4	19,4	18,9	16,9	25,1	6,0
5	19,6	18,2	17,9	23,9	6,0
6	20,2	18,8	17,7	24,2	6,4
7	20,0	18,0	17,4	24,3	6,2
8	19,3	18,3	17,6	24,0	6,2
9	19,6	18,0	17,8	24,6	6,0
10	19,7	17,9	17,3	24,3	6,0
11	20,1	18,8	18,0	24,7	6,2
12	19,3	18,4	17,0	24,0	6,0
13	19,7	18,8	17,6	24,3	6,6
14	20,2	18,3	17,9	24,1	6,5
15	19,7	18,0	17,5	24,0	6,0
Media	19,76	18,35	17,55	24,29	6,04
Desv. Estándar	0,33	0,34	0,33	0,34	0,23

Fuente: Datos obtenidos por el investigador. 2020

En la **tabla 2**, se observa las medidas de los halos de inhibición producidos por el efecto antibacteriano de los extractos etanólicos de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” al 100%, 75% y 50% sobre *Staphylococcus aureus*. Se encontró una media y desviación estándar de $19,76 \pm 0,33$; $18,35 \pm 0,34$ y $17,55 \pm 0,33$ para los extractos etanólicos de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” al 100%, 75% y 50% respectivamente. Los resultados de la media y desviación estándar para el Control Positivo (Sulfametoxaxol + trimetropin) fueron de $24,29 \pm 0,34$. Se observa un mayor efecto antibacteriano en el extracto etanólico al 100%, disminuyendo el efecto conforme disminuye su concentración.

Tabla 3. Prueba de Normalidad realizada para los grupos de trabajo

	Grupos de trabajo	Kolmogorov-Smirnov ^a		
		Estadístico	gl	Sig.
Diámetro del halo de inhibición	Extracto etanólico 100%	0,15	15	0,200*
	Extracto etanólico 75%	0,174	15	0,200*
	Extracto etanólico 50%	0,154	15	0,200*
	Extracto acuoso 100%	0,156	15	0,200*
	Extracto acuoso 75%	0,201	15	0,106
	Extracto acuoso 50%	0,13	15	0,200*
	Control Positivo	0,219	15	0,052
	Control Negativo	0,099	15	0,200*

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Fuente: Análisis de datos obtenidos mediante software estadístico SPSS ver. 24. (2020)

En la **tabla 3**, se observa el análisis de los datos para grupos de trabajo (Extracto acuoso y etanólico) a los cuales se les aplicó la prueba de Normalidad de Kolmogorov-Smirnov modificada por Lilliefors para determinar la distribución normal de los datos obtenidos. La prueba de normalidad fue aplicada con un nivel de significancia de 0,05%, encontrándose una significación mayor en todos los datos, rechazando la hipótesis alterna (H_1), por lo tanto, se acepta la hipótesis nula (H_0), que confirma que existe distribución normal en los datos recolectados.

Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianzas

Diámetro del halo de inhibición			
Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
1,192	7	112	0,313

Fuente: Análisis de datos obtenidos mediante software estadístico SPSS ver. 24. 2020

En la **Tabla 4**, se muestran los resultados del análisis de la prueba de homogeneidad de varianzas obtenidos mediante software estadístico SPSS ver. 24 a los grupos de trabajo (extractos acuosos y etanólicos). Se observa en el Estadístico de Levene una significancia de 0,313, por lo tanto, se rechaza la H_1 y acepta H_0 que confirma la homogeneidad de las varianzas en los grupos de análisis.

Tabla 5. Prueba de Tukey realizada a los grupos de trabajo (extractos etanólicos, extractos acuosos, control positivo y control negativo)

Diámetro del halo de inhibición							
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Extracto acuoso 50%	15	6,0333					
Control Negativo	15	6,0387					
Extracto acuoso 75%	15	6,2173	6,2173				
Extracto acuoso 100%	15		6,4420				
Extracto etanólico 50%	15			17,5513			
Extracto etanólico 75%	15				18,3533		
Extracto etanólico 100%	15					19,7593	
Control Positivo	15						24,2873
Sig.		0,684	0,433	1,000	1,000	1,000	1,000

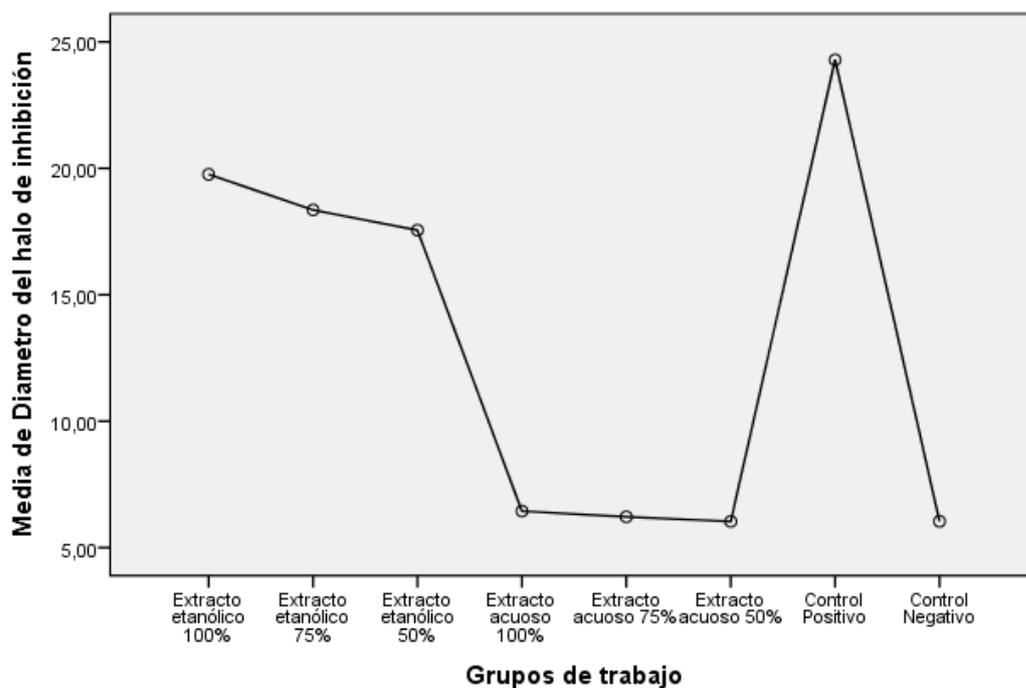
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.

Fuente: Análisis de datos obtenidos mediante software estadístico SPSS ver. 24. 2020

En la **tabla 5**, se muestra el resultado obtenido del análisis de los datos mediante la prueba de Tukey a los grupos de datos empleando el software estadístico SPSS ver. 24, se demuestra una relación significativa entre los datos del grupo control negativo y del grupo de los extractos acuosos al 50% y 75%, del mismo modo, existe una relación significativa entre los extractos acuosos al 50% y 100%, sin embargo, el resto de grupos no presenta ninguna relación significativa entre ellos o los grupos control.

Figura 1. Gráfico de medias de los grupos de análisis



Fuente: Obtenido mediante software estadístico SPSS ver. 24. 2020

En la **figura 1**, se grafica el comportamiento de los extractos acuoso donde se puede observar un comportamiento similar en todas las concentraciones similar al control negativo; el extracto etanólico muestra un comportamiento lineal creciente conforme aumenta la concentración del *Mentha spicata* L. “Hierba buena”, sin embargo, no llega a compararse con el comportamiento del control positivo

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de resultados

El efecto antibacteriano de los extractos acuoso y etanólico se verifico mediante el método de difusión en agar o tambien llamado Kirby Bauer, el tamaño de los halos de inhibición producidos por los extractos sobre una placa petri con *Staphylococcus aureus* nos confirma su actividad.

En el estudio se emplearon cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* lo que nos da la seguridad de trabajar con cepas no contaminadas ni resistentes, que para efectos del estudio resultan las más adecuadas ya que las cepas de campo pueden ser resistentes o sufrir alguna alteración que ponga en riesgo los resultados del estudio.

Los resultados mostrados en la tabla 1, muestran los diámetros de los halos de inhibición obtenidos del extracto acuoso de *Mentha spicata* (Hierba buena), control positivo y negativo frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, los diámetros del extracto acuoso muestran un tamaño similar al control negativo (agua esteril) lo que refleja una falta de efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Sin embargo, en la figura 1 del gráfico de medias en relación al extracto acuoso se puede observar una ligera pendiente en el comportamiento del extracto acuoso relacionada con la concentración y el efecto antibacteriano, pero tal comportamiento no puede ser determinante para confirmar la sospecha de un efecto bactericida del extracto acuoso, por lo tanto, se demuestra que no existe efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Estos resultados parecen ser contrarios a los encontrados por Padmini, E y col (2010) donde evidencian un notorio efecto antibacteriano del extracto acuoso de *Mentha spicata* (Hierba buena) sobre *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*, talvez dicho resultado pudo deberse a la forma de extracción de la especie vegetal o el método de extracción del extracto acuoso³⁷.

Con respecto a los resultados obtenidos con el extracto etanólico sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se observa un promedio de halos de inhibición de 19,76; 18,35; y 17,55 para las concentraciones de 100%, 75% y 50% respectivamente del extracto etanólico de *Mentha spicata* (Hierba buena), estos

resultados guardan relación con varios estudios que confirman la actividad antimicrobiana de *Mentha spicata* (Hierba buena), sin embargo, esta la actividad antimicrobiana encontrada sobre *Staphylococcus aureus* no puede ser considerada similar a la actividad del control positivo (SMT+TMP), pero si puede ser comparada con el efecto que produce los discos de Oxacillina 1 mcg sobre esta bacteria los cuales varían de 18 - 24 mm según muestra el certificado de análisis de la bacteria en estudio (Ver Anexo D)

Apartir de los resultados encontrados podemos aceptar la hipótesis alternativa planteada pero solo con respecto al extracto etanólico de *Mentha spicata* L. “Hierba buena”, el cual mostró efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, sin embargo el extracto acuoso no mostró tal efecto.

La actividad antifúngica del extracto etanólico *Mentha spicata* (Hierba buena) ha sido demostrada por Huanca J. & col. (2018) sobre cepas de *Candida albicans*⁷, del mismo modo, el aceite esencial mostró actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli*, en un estudio realizado por Figueroa M. (2018)⁸.

Shahbazi Y. y Shavisi, N. (2019)¹⁰, indican que la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Mentha spicata* L (Hierba buena) sobre *Staphylococcus aureus*, se debe a la carvona y limoneno información que ha sido respaldada por otros autores, es posible en ese sentido que este metabolito secundario se encuentre en el extracto etanólico de la planta o se presenten otros componentes con actividad antibacteriana.

Hussain, A. et al verificaron la actividad antioxidante y antimicrobiana de la carvona y cis carveol, mediante de dilución en caldo y difusión en agar, confirmando gran actividad antimicrobiana sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pasturella multocida*, *Escherichia coli*, *Fungal strains Aspergillus niger*, *Mucor mucedo Fusarium solani*, *Botryodiplodia theobromae*, *Rhizopus solani*¹⁶.

La aplicación de la prueba de normalidad permite determinar si los grupos de trabajo presentan una distribución normal, en la tabla se observa un nivel de significancia mayor al 0,05% lo que demuestra que los datos presentan una distribución normal, esto permitirá aplicar la estadística paramétrica.

El control positivo presenta un nivel de significancia de 0.052 siendo este resultado mayor que el 0,05 por lo que se considerará dentro del grupo de datos con comportamiento paramétrico.

4.2. Conclusiones

- En relación al objetivo general se logró determinar mediante el método de Kirby Bauer el efecto antibacteriano de los extractos acuoso y etanólico de *Mentha spicata* L. “hierba buena” sobre cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
- Los extractos acuosos al 50%, 75% y 100% de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, no demostraron efecto antibacteriano.
- Los extractos etanólicos al 50%, 75% y 100% de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, demostraron efecto antibacteriano.
- Los resultados al ser comparados demuestran que el extracto etanólico presenta mayor efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 que el extracto acuoso de *Mentha spicata* L. “Hierba buena”.

4.3. Recomendaciones

- Nuestro estudio determinó el efecto antibacteriano de *Mentha spicata* L. “Hierba buena” sobre *Staphylococcus aureus*, pero dicho efecto teniendo como antecedente el presente estudio puede presentarse en otros tipos de microorganismos, por lo que se sugiere a futuros investigadores realizar estudios al respecto.
- Los resultados del estudio pueden servir para plantear tratamientos iniciales de bajo riesgo contra este tipo de bacterias, por lo que se sugiere a las instituciones de salud demostrar efectividad y promover su uso alternativo.
- Se sugiere realizar estudios de identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico a nivel instrumental, lo que puede ayudar a determinar el potencial efecto de esta planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rojas N, Chaves E, García F. Bacteriología diagnóstica. Universidad de Costa Rica. Costa Rica: Facultad de Microbiología; 2015.
2. Organización Mundial de la Salud. Datos recientes revelan los altos niveles de resistencia a los antibióticos en todo el mundo [Internet]. WHO. World Health Organization; 2018 [cited 2020 Sep 8]. Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2018/antibiotic-resistance-found/es/>
3. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo. Indicadores de contaminación fecal en aguas. Red Iberoamericana de Potabilización y Depuración del Agua [Internet]. 2016 [cited 2020 Oct 10];224–9. Available from: http://tierra.rediris.es/hidrored/ebooks/ripda/pdfs/Capitulo_20.pdf
4. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. OMS. 2020 [cited 2020 Oct 10]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>
5. Piangka N, Ahmed T, Acharjee M. Microbiological analysis for drug resistant pathogenic microorganisms with determination of the antibacterial properties found in *Fragaria x ananassa* (strawberry) samples. *Stamford J Microbiol.* 2017;6(1):16–9.
6. García C. Resistencia antibiótica en el Perú [Internet]. Colegio Médico del Perú; 2012 [cited 2020 Oct 11] p. 99–103. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1728-59172012000200010
7. Organización Panamericana de la Salud. Resistencia Antimicrobiana. Perfil del País-Perú. SAIDI [Internet]. 2016 [cited 2020 Sep 27]; Available from: http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2009/Perfil_de_pais_Peru.pdf?ua=1
8. Rocha C, Reynolds ND, Simons MP. Resistencia emergente a los antibióticos: Una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la

- saludd. Acta Medica Peruana. 2015;139–45.
9. Planta Hierbabuena - Mentha Spicata [Internet]. [cited 2020 Oct 10]. Available from: <https://plantasparacercoyjardin.com/planta-hierbabuena-mentha-spicata/>
 10. Grove S, Gray J. Investigación en Enfermería: Desarrollo de la práctica enfermera basada en evidencia. 7ma ed. Barcelona - España: Elsevier; 2019. 487 p.
 11. Cervantes E. Características generales del Staphylococcus aureus [Internet]. Vol. 61, Rev Latinoam Patol Clin Med Lab. 2014 [cited 2020 Oct 15]. Available from: www.medigraphic.com/patologiaclinicawww.medigraphic.org.mx
 12. Figuerola M. “Efecto antibacteriano del aceite esencial de Mentha spicata sobre Escherichia coli cepa 25922 comparado con norfloxacino, in vitro” [Internet]. Universidad César Vallejo; 2018. Available from: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/25386/figuerola_vm.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 13. Castro Y. Eficacia antibacteriana de los aceites esenciales de Mentha piperita “menta” Y Rosmarinus officinalis “romero”, sobre Staphylococcus aureus, estudio in vitro [Internet]. Universidad César Vallejo; 2016. Available from: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/553/castro_ny.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 14. Gutierrez D, López I, Morales P, Ramírez M. Comparación del efecto inhibitorio de nanopartículas de plata estabilizadas con citrato y Mentha spicata sobre Enterobacter cloacae David [Internet]. Universidad Autónoma De Nuevo León; 2017. Available from: <file:///C:/Users/marti/Downloads/82-176-1-SM.pdf>
 15. Espadero M, Avilés H, Armijos L, Ávila L, Idrovo L, Idrovo M, et al. Evaluación microbiológica y composición química de extractos orgánicos de Euphorbia aff. viridis (Klotzsch & Garcke) Boiss sobre Staphylococcus Aureus, Klebsiella Pneumoniae y Escherichia Coli. La Granja Rev Ciencias la Vida. 2019;29(1):114–24.
 16. Chrysargyris A, Xylia P, Botsaris G, Tzortzakis N. Antioxidant and

antibacterial activities, mineral and essential oil composition of spearmint (*Mentha spicata* L.) affected by the potassium levels. *Ind Crops Prod.* 2017 Sep 1;103:202–12.

17. Horváth P, Koščová J. In vitro Antibacterial Activity of Mentha Essential Oils Against *Staphylococcus aureus*. *Folia Vet.* 2017;61(3):71–7.
18. Hernández Sampieri R. Metodología de la Investigación. 6ta edició. México,D.F.: Mc Graw Hill; 2014.
19. Gilman, Goodman. Terapéutica, Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 12ed ed. Laurence L B, editor. Laurence Brunton. México: McGraw-Hill/Interamericana; 2014.
20. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalizacion de la Técnica de Kirby-Bauer. *Biomedica.* 2018;35(1):103–9.

ANEXOS

Anexo A. Operacionalización de variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Extracto etanólico de <i>Mentha spicata</i> L. "Hierba Buena"	Concentración	Cuantitativo	Ordinal	100%	Porcentaje
				75%	
				50%	
Extracto acuoso de <i>Mentha spicata</i> L. "Hierba Buena"	Concentración	Cuantitativo	Ordinal	100%	Porcentaje
				75%	
				50%	
VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	TIPO	ESCALA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE
Efecto antibacteriano	Halo de inhibición	Cuantitativo	Ordinal	$\leq 8\text{mm}$ 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm	Nula Sensible Medio Muy sensible

Anexo B. Instrumentos de recolección de datos

**CUADRO DE REGISTRO DE DATOS DE TAMAÑOS DE HALO DE INHIBICIÓN
PRODUCIDOS EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Placa	Extracto Etanólico				Placa	Extracto Acuoso			
	Control positivo (mm)	50% (mm)	75% (mm)	100% (mm)		Control negativo (mm)	50% (mm)	75% (mm)	100% (mm)
1	24,0	17,7	18,5	19,4	1	6,0	5,9	6,4	6,4
2	24,3	17,5	17,9	20,2	2	6,0	6,8	6,9	6,1
3	24,6	17,5	18,5	20,1	3	6,1	6,7	6,2	6,6
4	25,1	16,9	18,9	19,4	4	6,0	6,0	6,2	6,3
5	23,9	17,9	18,2	19,6	5	6,0	6,4	6,0	6,4
6	24,2	17,7	18,8	20,2	6	6,4	6,4	6,4	6,5
7	24,3	17,4	18,0	20,0	7	6,2	6,3	6,4	6,3
8	24,0	17,6	18,3	19,3	8	6,2	6,1	6,4	7,0
9	24,6	17,8	18,0	19,6	9	6,7	6,0	6,6	6,4
10	24,3	17,3	17,9	19,7	10	6,3	6,3	6,5	6,5
11	24,7	18,0	18,8	20,1	11	6,2	6,3	6,9	6,8
12	24,0	17,0	18,4	19,3	12	6,0	6,0	6,8	6,4
13	24,3	17,6	18,8	19,7	13	6,0	6,0	6,9	6,4
14	24,1	17,9	18,3	20,2	14	6,5	6,2	6,6	6,1
15	24,0	17,5	18,0	19,7	15	6,0	6,1	6,3	6,6

Anexo C. Identificación taxonómica de *Mentha spicata* L. "Hierba buena"



HERBARIO
PRG



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

CONSTANCIA

La directora del herbario PRG de la UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO, que suscribe:

Hace constar:

Que, las Bachilleres Geovanna Verónica Fernández Pérez y Karina Noely Perales Correa, ha hecho llegar al Herbario PRG una (1) muestra botánica herborizada, para su identificación, la cual corresponde a *Mentha spicata* L. la cual será empleada en el Proyecto: Efecto antibacteriano de los extractos etanólico y acuoso de *Mentha spicata* L. "hierba buena" sobre *Staphylococcus aureus*; desarrollado en la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica – Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud – Universidad María Auxiliadora. Así mismo, la muestra consta en el libro de registro y base de datos del Herbario PRG con el número 18734.

Se expide la presente, a solicitud del interesado, para los fines que estime conveniente.

Lambayeque, noviembre del 2020


M. Sc. Josefa Escurra Puicón
Directora Herbario PRG

Anexo D. Certificado de análisis de la cepa de Staphylococcus aureus ATCC 25923



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 380-407** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Keshia L Negen Release Date: 2018/9/11
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm  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.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

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

Meaning of Consistency Categories (A - C)

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

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
Sample Description: 0360
Sample ID: 360-407
Sample Creation Date/Time: 2018-09-05T12:23:16.417 MLB
Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E12 (+++)(A)	360-407	Staphylococcus aureus	2.34

Comments:

N/A

Anexo E. Evidencias de campo



Figura 2. Preparación de los macerados de hojas de *Mentha spicata* L. "Hierba buena"



Figura 3. Filtrado de los macerados de hojas de *Mentha spicata* L. "Hierba buena"



Figura 4. Evaporación de los filtrados de *Mentha spicata* L. "Hierba buena"



Figura 5. Pesada de los extractos de *Mentha spicata* L. "Hierba buena"



Figura 6. Preparación de los extractos de *Mentha spicata* L. "Hierba buena" a diferentes concentraciones



Figura 7. Activación de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Figura 8. Incubación de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Figura 9. Preparación del inóculo de trabajo



Figura 10. Preparación de discos con extractos de *Mentha spicata* L. "Hierba buena"

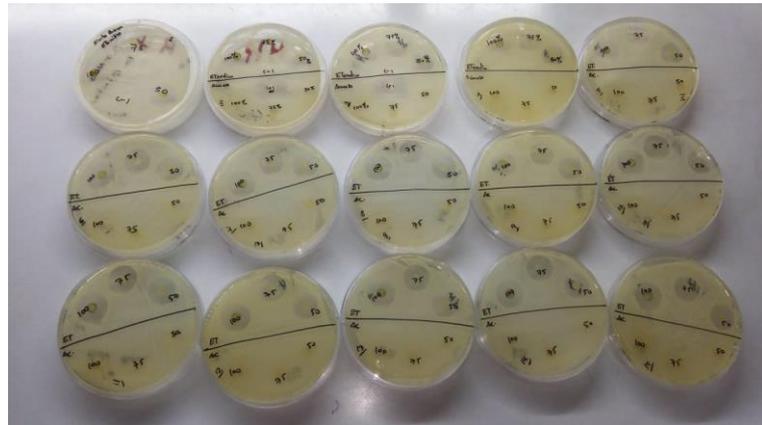
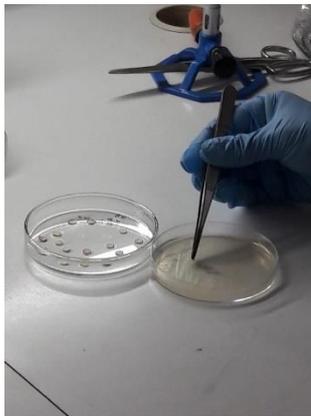


Figura 11. Aplicación de los discos en medios de cultivo con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Figura 12. Incubación de placas



Figura 13. Medición de los halos de inhibición

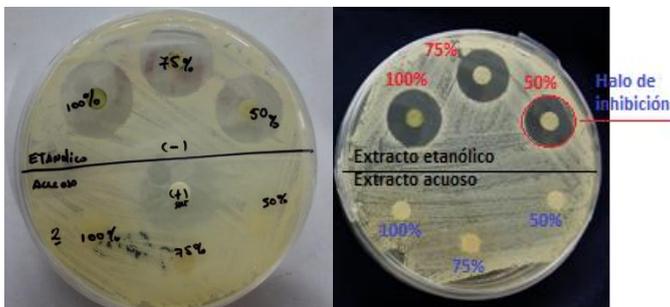


Figura 14. Formación de halos de inhibición

Carta de Autorización

Mediante la presente, yo Francisco Gerardo Salazar Cubas, con DNI 16400882, dedicado a la agricultura; autorizo a las bachilleres Geovanna Veronika Fernández Pérez identificada con DNI 41853723 y Karina Perales Correa identificada con DNI 46308226, para que se puedan desplazar en mis tierras ubicadas en la provincia de Ferreñafe y así poder recolectar su planta de estudio *Mentha spicata* "Hierba buena" para el desarrollo de su tesis.

Exido la presente a solicitud de las interesadas para los fines que crean convenientes.

Chiclayo, 10 de octubre del 2020



Francisco Gerardo Salazar Cubas
DNI N° 16400882