



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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO
GLICÓLICO DE LAS HOJAS DE *Synadenium grantii*
Hook (Árbol de la Vida), SOBRE CEPAS DE *Escherichia*
coli ATCC 8739 IN VITRO.

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORES:

Bach. AROTAYPE CHOQUEHUANCA, MARILÚ

<https://orcid.org/0000-0002-7846-1873>

Bach. CHAMBILLA ALVAREZ, CARMEN LISBETH

<https://orcid.org/0000-0003-1928-4819>

ASESOR

Mg. FLORES LÓPEZ, OSCAR BERNUY

<https://orcid.org/0000-0001-9091-2537>

LIMA- PERÚ

2022

DEDICATORIA

A Dios que es mi fortaleza y guía en mi vida, mi Madre que desde el cielo me inspira a seguir adelante en mis metas, mi Padre y hermanos que han sido mis pilares para concluir esta tesis, a mis amigos y compañeros quienes compartieron sus conocimientos gratuitamente.

Marilú Arotaype Choquehuanca

A Dios, A la Virgen de Copacabana, por darme las fuerzas necesarias para poder acabar mi carrera satisfactoriamente.

A mis padres Jorge y Ana, y a mis hermanos, por ser mi apoyo y guía en cada día de la vida, por ser el motivo que me impulsa a seguir con mis sueños y metas a lograr.

A todas aquellas personas que de alguna manera me dan fuerzas para seguir adelante y en especial a **Ti**, *que me impulsaste a terminar mi carrera.*

Carmen Lisbeth Chambilla Alvarez

AGRADECIMIENTO

A Dios, en primer lugar, por ser el guía de nuestros caminos, por darnos las fuerzas necesarias para continuar día a día y sobre todo por permitirnos llegar a vivir este momento tan importante de nuestras vidas, para que nos bendiga en cada logro que alcanzaremos.

Agradecer también a nuestros docentes, amigos y familiares que estuvieron con nosotros a lo largo de este camino.

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN	6
ABSTRACT	7
I. INTRODUCCIÓN	8
II. MATERIALES Y MÉTODOS	14
II.1 Enfoque y diseño de la investigación	14
II.2 Población, muestra y muestreo	14
II.3 Variables de la investigación	15
II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos	16
II.5 Plan metodológico para la recolección de datos	16
II.6 Procesamiento del análisis estadístico	20
II.7 Aspectos éticos	21
III. RESULTADOS	22
IV. DISCUSIÓN	27
IV.1 Discusión de resultados	27
IV.2 Conclusiones	30
IV.3 Recomendaciones	31
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32
ANEXOS	39
ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos	39
ANEXO B: Matriz de consistencia	42
ANEXO C: Operacionalización de las variables	43
ANEXO D: Constancia de estudio taxonómico de la especie vegetal	44
ANEXO E: Certificado de análisis de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	45
ANEXO F: Evidencias fotográficas del trabajo de campo	46

ÍNDICE DE TABLAS

	Páginas
Tabla 1. Resultados de la Prueba de Solubilidad	22
Tabla 2. Resultados de la Marcha Fitoquímica	23
Tabla 3. Resultados del Ensayo Microbiológico del extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook(Árbol de la vida) sobre cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.	25

RESUMEN

Objetivo: Este estudio presenta como finalidad esencial, determinar la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) en cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

Materiales y métodos: El análisis incluye un enfoque cuantitativo, de diseño experimental y explicativo. En la parte experimental del estudio, se recolectaron 10 000 gramos de hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) las cuales se procedieron a limpiar, logrando obtener 1 000 gramos de hojas para la elaboración del extracto, al cual se le realizaron las pruebas de solubilidad y análisis fitoquímico. Para el ensayo microbiológico, se utilizó el método propuesto por Kirby Bauer de difusión en agar, en el cual se usaron las siguientes concentraciones del extracto glicólico al 25%,50%,75% y 100%, como control negativo agua destilada y como control positivo Neomicina 30 ug/ml, sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

Resultado: En cuanto a los resultados del ensayo de solubilidad, se observó una afinidad del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) por el agua destilada, indicándonos que presenta una característica muy soluble, asimismo se obtuvo como resultado soluble a los solventes alcohólicos como: etanol, metanol, butanol, finalmente el solvente de naturaleza apolar cloroformo que presentó insolubilidad.

En la marcha fitoquímica del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida), se logra observar una reacción muy evidente de: flavonoides, taninos, fenoles y alcaloides para la reacción de Wagner. En el ensayo microbiológico, se obtuvo como resultado una medición de 6 mm de diámetro en los halos de inhibición para las concentraciones utilizadas en el tiempo que se reportó.

Conclusión: Después del estudio realizado se concluye que el extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) muestra ausencia de actividad antibacteriana en relación al control positivo y negativo, frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739, luego de 24 horas.

Palabras claves: Actividad antibacteriana, *Escherichia coli*, *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida).

ABSTRACT

Objective: The essential purpose of this study is to determine the antibacterial activity of the glycolic extract of the leaves of *Synadenium grantii* Hook (Tree of Life) on *Escherichia coli* ATCC 8739 strains.

Materials and methods: The analysis includes a quantitative approach, with an experimental and explanatory design. In the experimental part of the study, 10,000 grams of leaves of *Synadenium grantii* Hook (Tree of Life) were collected, which were cleaned, obtaining 1,000 grams of leaves for the elaboration of the extract, to which the following tests were carried out. solubility tests and phytochemical analysis. For the microbiological test, the method proposed by Kirby Bauer of diffusion in agar was used, in which the following concentrations of glycolic extract were used at 25%, 50%, 75% and 100%, as negative control distilled water and as control positive Neomycin 30 ug/ml, on *Escherichia coli* strains ATCC 8739.

Result: Regarding the results of the solubility test, an affinity of the glycolic extract of the leaves of *Synadenium grantii* Hook (Tree of life) for distilled water was observed, indicating that it has a very soluble characteristic, also it was obtained as a result soluble at alcoholic solvents such as: ethanol, methanol, butanol, finally the solvent of apolar nature, chloroform, which presented insolubility.

In the phytochemical process of the glycolic extract from the leaves of *Synadenium grantii* Hook (Tree of Life), a very evident reaction of: flavonoids, tannins, phenols and alkaloids for the Wagner reaction is observed. In the microbiological test, a measurement of 6 mm diameter was obtained in the inhibition halos for the concentrations used in the reported time.

Conclusion: After the study carried out, it is concluded that the glycolic extract of the leaves of *Synadenium grantii* Hook (Tree of life) shows an absence of antibacterial activity in relation to the positive and negative control against the strains of *Escherichia coli* ATCC 8739, after 24 hours.

Keywords: Antibacterial activity, *Escherichia coli*, *Synadenium grantii* Hook (Tree of life).

I. INTRODUCCIÓN

La propagación de las diversas afecciones al organismo es producida por bacterias altamente contagiosas las cuales han expuesto y puesto en peligro la Salud Pública, por tal motivo se dan nuevas oportunidades al estudio de nuevas fuentes naturales que tengan como consecuencia la disminución de la multiplicación bacteriana, hallando así en las plantas medicinales metabolitos secundarios para este propósito.

Escherichia coli (*E. coli*) es un microorganismo que ocasiona en la mucosa del intestino un perjuicio histológico. La estructura de este procedimiento es muy perjudicial y complicada. Cuando se sitúan en el interior del intestino este microorganismo se multiplica a brevedad posible y empiezan a fijarse unas con otras logrando conformar una pequeña colonia, luego esta mediante su extremidad alargada inserta aminoácidos con los cuales debilitan y reducen las funciones primordiales del cuerpo humano. Este microorganismo logra fijarse con fortaleza y seguridad, modificando toda la estructura de las células epiteliales que protegen el interior del intestino delgado.

En nuestro país el uso medicinal de las plantas se remonta desde tiempos antiguos los cuales se transmitieron por medio de la cultura y costumbres de nuestros antepasados, utilizando las partes aéreas de las plantas. Este uso se fundamenta en los principios activos que contiene la planta permitiendo prevenir numerosas enfermedades que perjudican al hombre.

Las plantas medicinales son consideradas durante los últimos años como un recurso para restaurar y preservar la salud por sus principios activos, esto se debe a la práctica que se realiza en lugares rurales del país, convirtiéndose en un gran potencial en la búsqueda de nuevos medicamentos, cura de ciertas enfermedades, teniendo en cuenta que muchas de estas, todavía no han sido estudiadas.

La importancia del presente trabajo de investigación se basa en proporcionar a la población un óptimo entendimiento de la planta medicinal *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida), permitiendo contribuir nuevos y mejores beneficios terapéuticos, brindando información en cuanto a la eficacia y menores

reacciones adversas de las plantas medicinales frente a los fármacos de origen químico.

Por consiguiente, se plantea la investigación de la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas del *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida). Este estudio dará aportes nuevos de las plantas medicinales al conocimiento de la población.

El presente trabajo pretende evaluar la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) junto a ello primero se realizará un tamizaje fitoquímico para identificar los metabolitos secundarios responsables de la actividad antibacteriana por evaluar, para así poder comprobar la eficiencia o no de esta.

El intento por disminuir el uso excesivo de antibióticos, motiva a realizar estudios antibacterianos a las plantas medicinales, ya que en la actualidad se ha creado una gran resistencia frente a determinados microorganismos.

Entre los antecedentes de la investigación se dispone:

Laureano, H et al. (2021) El objetivo de investigación fue determinar el efecto antibacteriano *in vitro* del látex de *Synadenium grantii* sobre cepas de *Escherichia coli*. Primeramente, se procedió a realizar los ensayos de solubilidad y de análisis fitoquímico siguiendo el método de Olga Lock. Mientras que, para el ensayo microbiológico, se realizó el método de difusión en agar propuesto por Kirby Bauer, utilizando las concentraciones del látex al 100%, 75%, 50% y 25 %, así como un control negativo y un control positivo que fue ciprofloxacino de 5 ug. Según los resultados con el ensayo de solubilidad, el agua destilada fue la única sustancia con la que la muestra fue muy soluble, durante el análisis fitoquímico se halló la presencia de alcaloides y saponinas. En cuanto al ensayo microbiológico los halos de medición para todas las concentraciones utilizadas, luego de las 24, 48 y 72 horas fueron de 6 mm de diámetro en cada uno de los tiempos reportados. Concluyendo en que el látex de *Synadenium grantii* no evidencia efecto antibacteriano sobre cepas de *Escherichia coli* ⁽³¹⁾.

Cavero, A (2018) El objetivo de esta investigación fue la evaluación de la actividad antibacteriana *in vitro* del látex del Árbol de la vida frente a cepas de *Escherichia coli*. La población estuvo constituida por la cepa de *E. coli*, este ejemplar fue una muestra conformada por 16 placas infectadas con la cepa en estudio. Luego se prosigió con el análisis de la actividad antimicrobiana en tres diluciones al 75, 50 y 25 por ciento del látex del Árbol de la vida en cepas de *Escherichia coli*; teniendo como resultado que la dilución al 100% obtuvo una inhibición de 23.8 mm, el de 75% de 19.71 mm, el de 50% de 19.90 mm y el de 25% de 18.2 mm. Examinados y estudiados los resultados se llega a la conclusión que el látex del Árbol de la vida presenta actividad antimicrobiana en cepas de *Escherichia coli* (8).

Rwegoshora, F (2021) El objetivo a estudiar fue aislar y probar el bioactivo compuesto de *Synadenium glaucescens* obtenidos en la región de Njombe, Tanzania. La extracción fue mediante el método Soxhlet, identificando terpenoides y acetato de lupeol. Se usó el método difusión en pozos de agar para probar la presencia de antimicrobianos obteniendo un MIC de 0.01 mg/mL frente a *Acinetobacter baumannii* y *Salmonella entérica* y una inhibición de 27 mm frente a *Candida tropicalis* concluyéndose que *Synadenium glaucescens* presenta actividad antibacteriana (7).

Miranda, A (2015) En el presente trabajo, se realizaron estudios: fitoquímico, de actividad antibacteriana y citotóxica *in vitro* del látex de *Euphorbia laurifolia* sobre patógenos dérmicos. La muestra de la especie vegetal se recolectó en la parroquia de Cubijíes, ubicada en la provincia de Chimborazo. Posteriormente, se realizó el estudio fitoquímico del látex de *E. laurifolia* mediante Cromatografía en Capa Fina teniendo como resultado la presencia de gran cantidad de compuestos terpénicos, en la evaluación de la actividad citotóxica mediante el modelo de *Artemia salina* de la fracción terpénica soluble mediante el empleo de dimetilsulfóxido se determinó que la concentración letal media (LC50) fue de 214,50 ppm en *A. salina*. Además, se comprobó mediante diferentes métodos que el extracto hexánico del látex de *E. laurifolia* carece de actividad antimicrobiana al utilizarse sobre patógenos dérmicos a la concentración máxima de prueba de 5 mg/mL. Se concluye que los terpenos identificados en el extracto hexánico del látex de *E. laurifolia* presentan

actividad citotóxica sobre *A. salina*, pero carecen de actividad antimicrobiana in vitro (6).

Espinoza, C et al (2018) El objetivo de la investigación consistió en evaluar el efecto antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri Müll. Arg.* (Sangre de grado) frente a *Staphylococcus aureus*. La muestra vegetal obtenida fue de 500 mL, recolectada en la provincia de Tingo María, Departamento de Huánuco. En el análisis fitoquímico del látex *Croton lechleri Müll. Arg.* se identificó compuestos químicos: carbohidratos, compuestos fenólicos, antocianinas, catequinas, flavonoides, saponinas, polifenoles, iridoides, alcaloides, triterpenos esteroides, aminoácidos y taninos. Para la determinación del efecto antibacteriano *in vitro* se empleó el método de difusión en agar, concentraciones del látex al 25%, 50%, 75%, 100%; control (+) Oxacilina y control (-) agua destilada. Los resultados se determinaron en función a la medida del diámetro de los halos de inhibición. Se concluyó que el látex *Croton lechleri Müll. Arg.* Tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* (29).

Espadero, M et al (2019) En el presente estudio se analizaron los compuestos orgánicos extraídos de las hojas de la planta. Para el estudio fitoquímico se analizaron los fenoles, taninos, saponinas, cumarinas, lactonas y flavonoides, observándose resultados positivos para cada compuesto químico. El ensayo microbiológico del extracto etanólico mostró un porcentaje de inhibición del 44% sobre *Klebsiella pneumoniae* y un 43% sobre *Escherichia coli*, y se observó un resultado negativo de inhibición para *Staphylococcus aureus*. Concluyendo que los extractos orgánicos de *Euphorbia aff. viridis (Klotzsch Garcke) Boiss.* Presentaron actividad antimicrobiana. (30).

Por consiguiente, el presente trabajo posee una sustentación contemplativa, puesto que se pudo acceder a una mayor información con respecto a los tipos de metabolitos secundarios; los cuales son los encargados del efecto terapéutico y la actividad antibacteriana presentes en el extracto glicólico con relación a la cepa de *Escherichia coli*. Así mismo, surgirá una posibilidad de que sea utilizada en un futuro como un producto antibacteriano con menores efectos secundarios en los pacientes, de la misma forma dar a conocer el uso de la planta de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida) como una especie vegetal beneficiosa para la población.

Por otro lado, se formuló una justificación para dar a conocer a la sociedad la cual se basa en la comprobación de la actividad antibacteriana que tienen las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida), siendo la población de inferior economía la más beneficiada, teniendo una opción segura y económica para el tratamiento de casos diagnosticados con la bacteria de estudio.

En la actualidad se realizan estudios en busca de nuevas terapias antibacterianas como alternativa en los diferentes tratamientos de antibióticos conocidos, esto se debe a la resistencia que presentan algunos microorganismos alrededor del mundo. La resistencia antibacteriana se da cuando los microorganismos experimentan variaciones logrando así que los fármacos empleados en la cura de las afecciones ocasionados por estos dejen de ser eficaces. Este es un problema de Salud Pública debido al impacto directo en la salud y en la economía para tratar estas enfermedades. Por consiguiente, la OMS ha declarado la resistencia a los antibióticos como uno de los problemas más importantes que enfrenta la salud humana en la medicina moderna al constituir una de las mayores amenazas para la salud mundial (10).

Por lo tanto, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo general determinar la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) en cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

Para ello se plantea como hipótesis general. El extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) tiene actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1.-Enfoque y diseño de la investigación

Enfoque: El trabajo realizado tiene un enfoque cuantitativo; porque se llevó a cabo diversas mediciones con respecto al diámetro referido por los halos formados para la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida).

Experimental: Se recurrió al uso de una variable independiente; el extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida), y a la vez la variable dependiente; que es la actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

Transversal: Se recolectaron datos en una precisa ocasión y momento.

Explicativo: Se pretendió analizar las diferentes concentraciones del extracto glicólico de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) y su relación con la actividad antibacteriana con respecto a las cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

II.2.-Población, muestra y muestreo

II.2.1.-Población

La población vegetal está compuesta por 10 000 gramos de un eco tipo cuidadosamente seleccionado de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida), el cual fue adquirido en el distrito de La Joya -Majes – Pedregal del Departamento de Arequipa a una altura de 1420 m.s.n.m.

En el estudio microbiológico se tuvo como población a las cepas del microorganismo bacteriano *Escherichia coli* ATCC 8739.

II.2.2.-Muestra

Se utilizó como muestra 1000 gramos de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida).

Para el estudio microbiológico se tuvo como muestra las placas Petri de Agar Mueller Hinton.

II.2.3.-Muestreo

-Criterios de inclusión

Hojas en buen estado, verdes y sanas.

-Criterios de exclusión.

Hojas amarillas, dañadas por hongos y organismos ajenos a la planta.

II.3.-Variables de investigación

II.3.1.-VARIABLE INDEPENDIENTE

Formada por el extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida).

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: Resultado obtenido a partir de la maceración de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) por 15 días en agua y propilenglicol; a la vez concentrado y guardado, posteriormente se administró en diferentes concentraciones.

DEFINICIÓN OPERACIONAL: Concentración del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida).

INDICADORES: Concentraciones de los extractos

- ✓ 25%
- ✓ 50%
- ✓ 75%
- ✓ 100%.

II.3.2.-VARIABLE DEPENDIENTE

Actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

DEFINICIÓN CONCEPTUAL: Facultad o capacidad de compuestos químicos para impedir o eliminar el desarrollo y/o proliferación de microorganismos.

DEFINICIÓN OPERACIONAL: Susceptibilidad bacteriana de los microorganismos frente al extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida), relacionados con la medición del halo de inhibición conseguidos por el extracto.

INDICADORES: Escala de sensibilidad, según Duraffourd.

- ✓ Sensibilidad nula (-) menor a 8 mm
- ✓ Sensible (+) mayor a 8 mm
- ✓ Muy sensible (+ +) mayor a 14 mm

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

La técnica que se utilizó fue la recolección de datos, la cual se basó principalmente en la observación de la parte experimental, para lo cual se empleó un vernier calibrado, en el cual se consignaron las respectivas medidas del halo de inhibición.

Los resultados logrados se registraron en Fichas de recopilación para cada uno de los procedimientos desarrollados: ensayo de solubilidad, tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana.

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

El método empleado en la recopilación de información, se basó en el método de la constante percepción sin participación alguna, verificando la secuencia de los procedimientos:

II.5.1.-Recolección y autenticación botánica

La muestra utilizada fue recolectada en el distrito de La Joya -Majes – Pedregal del Departamento de Arequipa. Así mismo, se procuró seleccionar y recolectar precavidamente las hojas de *Synadenium grantii*

Hook (Árbol de la vida), en buen aspecto, frescas, no deterioradas y libre de microorganismos como hongos, insectos, etc.

El resultado de la identificación botánica de la muestra se obtuvo dentro de las instalaciones del *Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)*

II.5.2.-Preparación del material vegetal

En el proceso de investigación se recaudaron 1.000 gramos de hojas frescas de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida), para posteriormente realizar el lavado y limpieza para lograr que la muestra se encuentre libre de microorganismos o agentes contaminantes y finalmente realizar el secado al medio ambiente por un periodo de 15 días calendario. Una vez que la muestra haya secado se procederá a realizar el pulverizado y almacenamiento en la oscuridad.

II.5.3.- Obtención del extracto glicólico

Una vez alcanzado el peso equivalente de 100 gramos de hojas de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida). Luego se procederá a realizar el macerado por 7 días con agua y propilenglicol, en una proporción de 1:10; luego se procederá al filtrado del macerado y se desechó la parte sólida.

Se trabajó con la parte líquida consiguiendo un acumulado de todos los nutrientes del extracto glicólico de las hojas *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida).

II.5.4.- Prueba de solubilidad y análisis fitoquímico

Para llevar a cabo el ensayo de solubilidad del extracto de las hojas de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida), empleamos una serie de solventes, luego se añadió 3 ml del extracto glicólico y se adiciona 1 ml de los diferentes solventes de naturaleza polar y apolar.

- 3 ml de Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida) + 1 ml Metanol
- 3 ml de Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida) + 1 ml Etanol

- 3 ml de Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) + 1 ml Cloroformo
- 3 ml de Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) + 1 ml Butanol
- 3 ml de Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) + 1 ml Acetil cetona
- 3 ml de Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) + 1 ml Agua destilada

En el análisis fitoquímico se empleó el método de Domínguez A y Lock O, el cual se basa en la presencia o ausencia de metabolitos secundarios presentes en la muestra vegetal, fundamentándose en reacciones químicas de coloración y precipitación, utilizando los distintos reactivos a emplearse.

II.5.5.-Ensayo microbiológico

Para el control se utilizó cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739, para el control positivo se utilizaron los discos de sensibilidad del antibiótico de Neomicina 30 ug/mL, y el control negativo fue agua destilada.

- **Medio de cultivo**

Se empleó el Agar Mueller-Hinton, el cual se preparó conforme a la información dada por el fabricante. Se empleó 15.2 g de agar y se diluyó en 400 mL de agua destilada, con un pH de 7.2 - 7.4 con solución de NaOH al 0.1 N. Se esteriliza en autoclave a una temperatura de 121 ° C por 15 minutos. Se dejó a T° aprox. de 40 °C - 45 °C y luego se prosiguió a plaquear, repartiendo el medio de cultivo en las placas Petri estériles hasta 4 mm. Se permite que solidifique el medio de cultivo por 20 minutos para posteriormente refrigerar de 2 a 6 °C, para ser usado después.

- **Elaboración del estándar (0,5 mc. Farland)**

En cuanto al inóculo se añadió 99.5 ml de H₂SO₄ al 0.18 M. y 0.5 ml de BaCl₂ al 0.048 M (solución acuosa) formándose un precipitado de sulfato de Bario suspendido, esta es una fórmula para aproximadamente 100 ml de agua destilada. Luego se

mezcla con insistente movimiento para conservar la suspensión. Se continuó ajustando las tapas para almacenar en un sitio oscuro a temperatura de 2 a 25 °C impidiendo el congelamiento o sobrecalentamiento hasta el instante en que se usó.

- Dilución para las diversas concentraciones al 25 %, 50 %,75 % y 100% del extracto.

- Concentración al 25% = 2.5 ml de extracto glicólico y 7.5 ml de agua destilada.
- Concentración al 50% = 5 ml de extracto glicólico y 5 ml de agua destilada.
- Concentración al 75% = 7.5 ml de extracto glicólico y 2.5 ml de agua destilada.
- Concentración al 100% = 10 ml de extracto glicólico y 10 ml de agua destilada.

- Preparación del inóculo,

En un tubo colocar 4 a 5 ml de caldo Tripticasa Soya, luego se añadió con un Asa de Kolie la cepa correspondiente. Posteriormente para la incubación de este caldo requerimos una temperatura de 35 °C a 37 °C, logrando la turbidez del estándar: 0,5 de la escala de Mc. Farland. La suspensión preparada contendrá aproximadamente 1×10^8 UFC/ml para *E. coli*.

Seguidamente se llevó a cabo el sembrado del inóculo bacteriano, después de los 15 minutos y con la turbidez del inóculo apropiado. Por último, se distribuirá en la superficie de las placas, logrando un estriado homogéneo del inóculo haciendo uso del hisopo para mantener una distribución apropiada.

La preparación del inóculo es comparada con la escala turbométrica de McFarland, la que se utiliza para este tipo de ensayo.

- Aplicación del extracto y disco de Neomicina en las placas inoculadas

Utilizando un saco bocado de acero se procedió a realizar 4 pocillos a una distancia alterna en las 6 placas con un diámetro de 6 mm con previa esterilización del mismo. Posteriormente con unas jeringas de insulina estériles se procedió a colocar 0.1 ml de extracto al 25%, 50% ,75% y 100%, en cada pocillo y los controles (positivo y negativo).

El ensayo para cada dilución se hizo seis veces:

- **Grupo I:** Neomicina 30 ug/ml (control positivo). Se agregó un disco de antibiótico.
- **Grupo II:** Agua destilada (control negativo). Se añadió 0.04 ml a cada pocillo de sensibilidad.
- **Grupo III:** Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida) al 25%: se añadió 0.04 ml a cada pocillo de sensibilidad.
- **Grupo IV:** Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida) al 50%: se añadió 0.04 ml a cada pocillo de sensibilidad.
- **Grupo V:** Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida) al 75%: se añadió 0.04 ml a cada pocillo de sensibilidad.
- **Grupo VI:** Extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii Hook* (Árbol de la vida) al 100%: se agregó 0.04 ml a cada pocillo de sensibilidad.

- Incubación

Realizada la siembra del inóculo en las placas, se llevará a la estufa para su incubación a una temperatura de 37 °C.

- Medición de los halos de inhibición.

Se utilizó un vernier calibrado transcurrida las 24 horas para la medición del diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de la cepa bacteriana.

II.6.-Procesamiento del análisis estadístico

La información obtenida en el presente trabajo de investigación se ingresó al programa Excel y Word para la obtención de tablas estadísticas las cuales nos permiten reforzar y solidificar toda la información reunida de las muestras estudiadas comprobando las hipótesis en estudio.

II.7.- Aspectos éticos

Las reglas éticas nos señalan que los estudios experimentales deben cumplir las normas de bioseguridad en el laboratorio de tal manera así resguardar la integridad de los investigadores previniendo así el contacto con residuos.

La muestra utilizada es de origen vegetal y los análisis desarrollados en nuestra investigación fueron con cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739. Así mismo debemos indicar que los procedimientos realizados se llevaron a cabo con las normativas correspondientes al laboratorio de investigación, con las limitaciones presentes por la coyuntura actual en la cual nos encontramos.

III. RESULTADOS

III.1.-Ensayo de Solubilidad

Tabla 1: Resultados de la prueba de solubilidad

N°	SOLVENTES	RESULTADO
1	ETANOL	++
2	METANOL	++
3	AGUA DESTILADA	+++
4	ACETIL CETONA	+
5	CLOROFORMO	-
7	BUTANOL	++

LEYENDA:

- INSOLUBLE (-)
- POCO SOLUBLE (+)
- SOLUBLE (++)
- MUY SOLUBLE (+++)

En la Tabla 1, se observan los resultados obtenidos, previamente de manera ordenada se etiquetó a los tubos de ensayo con cada solvente a utilizar. En cada tubo se introdujo 3 ml de extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida), para posteriormente agregar 1 ml del solvente (etanol, metanol, agua destilada, acetil cetona, cloroformo, butanol). Se agitó cada tubo de ensayo y observamos los resultados de la prueba de solubilidad por 10 minutos, asimismo se observó afinidad del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) por el agua destilada, el cual es un solvente polar, en el cual nos indica que presenta una característica muy soluble, asimismo se obtuvo como resultado soluble a los solventes alcohólicos como: etanol, metanol, butanol, finalmente el solvente de naturaleza apolar como es el cloroformo presentó insolubilidad.

III.2.- Marcha fitoquímica

Tabla 2: Resultados de la Análisis fitoquímico

MARCHA FITOQUÍMICA			
PRINCIPIO ACTIVO	PRUEBA	MÉTODO	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba cualitativa	Cualitativo	+
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	++
	Reacción de Mayer	Cualitativo	+
	Reacción de Wagner	Cualitativo	+++
LACTONAS	Reacción de Baljet	Cualitativo	++
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	Cualitativo	+++
CARDENOLIDOS	Reacción de Kedde	Cualitativo	-
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann-Burchard	Cualitativo	+
SAPONINAS	Reacción de espuma	Cualitativo	+
TANINOS	Reacción de cloruro férrico	Cualitativo	+++
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann-Burchard	Cualitativo	+
FENOLES	Reacción de Cloruro férrico	Cualitativo	+++
LEYENDA:			
<ul style="list-style-type: none"> • REACCIÓN MUY EVIDENTE (+++) • REACCIÓN EVIDENTE (++) • REACCIÓN POCO EVIDENTE (+) • NO HUBO REACCIÓN (-) 			

En la Tabla 2, se puede observar los resultados obtenidos, de manera ordenada y mediante un análisis cualitativo de la marcha fitoquímica del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida), se logra observar una reacción muy evidente de: flavonoides, taninos, fenoles y alcaloides para la reacción de Wagner. Asimismo, en la prueba de Dragendorff para alcaloides y Baljet para lactonas se observa una reacción evidente. Finalmente se observa una reacción poco evidente para triterpenos, saponinas, esteroides, antocianinas.

III.3.-Ensayo Microbiológico

TABLA 3: Resultados del ensayo microbiológico del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la Vida) frente a cepas clínicas de *Escherichia coli* ATCC 8739

MICROORGANISMO	EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la Vida)					
	LONGITUD DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
	TIEMPO DE INCUBACIÓN : 24 HORAS					
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	NEOMICINA 30 ug/ml	AGUA DESTILADA	25%	50%	75%	100%
	19.16	6	6	6	6	6
	18.95	6	6	6	6	6
	18.78	6	6	6	6	6
	19.66	6	6	6	6	6
	18.76	6	6	6	6	6
	19.44	6	6	6	6	6
	PROMEDIO	19.13	6	6	6	6

En la Tabla 3, se logra observar los resultados de los grupos del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la Vida), frente al control positivo que es la Neomicina 30 ug/ml, control negativo que es el agua destilada, frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

Después del tiempo de incubación, en las concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100 %, se muestran halos de inhibición similares a 6 mm. Por lo tanto, este resultado se deduce como ausencia de actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la Vida) frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739, por la prueba de difusión Agar.

Para el control negativo (agua destilada) se logró evidenciar un halo de inhibición de 6 mm.

Sin embargo, se logra evidenciar un promedio de halo de inhibición de 19.13 mm para el control positivo (Neomicina 30 ug/ml) después de 24 horas de incubación.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión de resultados

Escherichia coli es un microorganismo Gram negativo, anaerobio facultativo perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, el cual posee cepas patógenas que pueden causar daño ocasionando diversos cuadros clínicos. Según el estudio realizado a las hojas de la especie vegetal *Synadenium grantii* Hook, al cual se le hicieron varias pruebas para determinar su actividad antibacteriana frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739, demostrando ausencia en cuanto a actividad antibacteriana.

En cuanto a la prueba de solubilidad realizada al extracto, la cual se muestra en la tabla 1, se constató que el agua destilada fue el solvente que tuvo mayor solubilidad, demostrando que es un solvente polar, siendo poco soluble en etanol, metanol, butanol y con el cloroformo no presentó solubilidad. En un estudio realizado por Laureano et al (2021) demostraron que en la prueba de solubilidad al látex de *Synadenium grantii* Hook dio como resultado que presenta mayor solubilidad al agua destilada, también presentó mediana solubilidad al cloroformo y diclorometano, teniendo escasa solubilidad hacia los solventes butanol, etanol, metanol⁽³¹⁾.

En el estudio de Espinoza et al (2018) realizaron un estudio de solubilidad al látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. Obteniendo los resultados: mayor solubilidad al agua destilada y etanol 70°, medianamente soluble en éter, cloroformo⁽²⁹⁾.

El análisis fitoquímico realizado al extracto en estudio que se muestra en la tabla 2, muestra que los metabolitos secundarios encontrados con mayor evidencia son flavonoides, taninos, fenoles y alcaloides, con poca evidencia están las antocianinas, esteroides, saponinas y triterpenos. Según Laureano et al (2021) al realizar su ensayo encontró la presencia de metabolitos secundarios al látex de *Synadenium grantii* Hook identificando mayor presencia de alcaloides, saponinas que le dan posible actividad analgésica y citotóxica, teniendo poca presencia de compuestos fenólicos, lactonas, antocianinas, evidenciando ausencia de terpenos, esteroides, antraquinonas, taninos, flavonoides⁽³¹⁾.

Espinoza et al (2018) realizó la marcha fitoquímica al látex de *Croton lechleri* Müll. Arg. Donde demostró mayor presencia de compuestos fenólicos,

flavonoides, antocianinas y catequinas, saponinas y polifenoles. En cuanto a la presencia de metabolitos primarios presentes obtuvo poca presencia de azúcares reductores y almidón (29).

Se observan diferencias según los estudios realizados, esto se puede presentar porque la especie vegetal presenta metabolitos secundarios característicos de su familia, pero difieren químicamente. Según nuestro estudio se encontró metabolitos secundarios que no son responsables de dicha actividad en estudio como los alcaloides pudiendo ser su mecanismo de acción mediante la combinación del ADN y la pared celular del microorganismo, flavonoides a los que se les atribuye actividad antiinflamatoria, antimicótica, antiviral, diurética, anticancerígena, siendo estos de gran utilidad como iniciadores en la composición de hormonas y corticoides en el sector farmacéutico según Grández.

Asimismo, los resultados en la prueba microbiológica en la tabla 3 muestra que las concentraciones de 25%, 50%,75% y 100 %, evidencian halos de inhibición similares a 6 mm, a lo cual esto se comprende como carencia de actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la Vida) frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739, para el control negativo (agua destilada) dio como resultado un halo de inhibición de 6 mm, para el control positivo (Neomicina 30 ug/ml) se logra evidenciar un promedio de halo de inhibición de 19.13 mm después de 24 horas de incubación. Estos resultados se asemejan al estudio de Laureano et al (2021) al látex de *Synadenium grantii* Hook, donde vio que el látex no mostró efecto antibacteriano frente a cepas de *Salmonella entérica*, por la técnica de Kirby Bauer in vitro (31).

De igual manera el estudio realizado por Lozada M. (2016) a la especie *Croton elegans* Kunth (mosquera) sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus pyogenes* mediante la técnica de Kirby Bauer no se mostraron resultados de actividad antibacteriana (26). Otro estudio realizado por Godoy G. et al (2020) al espécimen *Croton gossypifolius* sobre cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* no presentando inhibición sobre dichos microorganismos (28). Según Guerrero M. (2019) realizó su estudio a la especie de Sangre de grado y Tomillo frente a cepas de *Staphylococcus aureus* en un

estudio in vitro utilizando la técnica de Kirby Bauer en diferentes concentraciones no presentando actividad antibacteriana sobre dicha bacteria (27).

De los trabajos mencionados se desprende que coinciden con el resultado de nuestro trabajo esto puede deberse a los diferentes microorganismos empleados en los estudios, concentraciones y a las especies vegetales en estudio.

En contraste con los trabajos mencionados citaremos estudios que sí presentaron actividad antibacteriana teniendo en cuenta la familia a la que pertenece nuestra planta, según el estudio realizado por Espinoza C. et al (2018) al látex de *Croton lechleri* Mull.Arg. Sobre *Staphylococcus aureus*. Emplearon la técnica de difusión en agar realizando para el estudio concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100%, como control positivo oxacilina y control negativo agua destilada se tomó la lectura a las 24 horas, concluyendo que si posee actividad antibacteriana (29). Otro estudio realizado por Cavero A. (2018) al látex de *Synadenium grantii* Hook sobre *Escherichia coli* la cual realizó concentraciones al 100%, 75%, 50%, 25% para el estudio concluyendo que si presenta actividad antibacteriana (8). Asimismo, el estudio realizado por Espadero M. et al (2019) a la especie vegetal de *Euphorbia aff. Viridis* (Klotzsch & Garcke) Boiss. frente a *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* donde se observó un porcentaje de 44% de inhibición frente a *Klebsiella pneumoniae*, un 43% de inhibición para *Escherichia coli*, no mostrando inhibición a *Staphylococcus aureus* concluyendo de esta manera que el extracto si presenta efecto antibacteriano (30).

Los resultados del ensayo microbiológico pueden haber sido afectados por múltiples factores como el lugar de recolección de la muestra, la humedad, la temperatura, el clima, estructura de los suelos todo ello puede haber influido en la composición de los metabolitos secundarios presentes en la planta.

IV.2 Conclusiones

- El extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) muestra ausencia de actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.
- Los metabolitos secundarios que evidenciaron el extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) fueron alcaloides, flavonoides, taninos y fenoles.
- Se determinó el ensayo microbiológico al extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) a las concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739. Obteniéndose resultados negativos.
- El estudio demuestra que el extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) no posee actividad antibacteriana comparándose con el antibiótico Neomicina 30 ug/ml sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739.

IV.3 Recomendaciones

- Realizar nuevos estudios de la planta de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida), desarrollando un análisis fitoquímico en un nuevo estudio permitiendo conocer los principios activos responsables de las diferentes actividades terapéuticas que se le atribuyen.
- Se recomienda para nuevos estudios de investigación de la especie vegetal *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) tener en cuenta las diversas zonas geográficas y clima para su estudio científico.
- Promover e impulsar la investigación sobre las diversas especies vegetales en docentes y egresados de la Universidad María Auxiliadora para dar un conocimiento novedoso a la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Benvenuto Vargas VP. Determinación de *Escherichia coli* Enteropatógena (ECEP) en agua de mar del Circuito de Playas de la Costa Verde [Tesis]. Lima, Perú: Universidad Ricardo Palma, Servicio de Publicaciones; 2017. Disponible en:
https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/1016/Benvenuto_vp.pdf?sequence=1&isAllowed=y
2. Yacarini Martinez AE, Arriaga Deza EV, y Beltran Orbegoso RA. Detección de patotipos de cepas de *Escherichia coli* causantes de diarrea infantil de Establecimientos de Salud de la Región Lambayeque-Perú, 2018. Comunicación Corta. [Internet]. 2018. [citado el 13 de agosto de 2021]. Disponible en:
<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/04/1177977/741-otro-1468-3-10-20201223.pdf>
3. Boletín Epidemiológico del Perú. Ministerio de Salud. Perú: Vol. 28-SE15. 2019[citado el 15 de agosto de 2021]. Disponible en:
<https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2019/15.pdf>
4. Bonifacio Yangua E, Chumpitaz Caman J. Actividad antibacteriana del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) sobre cepas de *Escherichia coli* en estudios in vitro [Tesis]. Lima, Perú: Universidad María Auxiliadora. 2021. Disponible en:
<http://repositorio.uma.edu.pe/bitstream/handle/UMA/491/ACTIVIDAD%20ANTIBACTERIANA%20DEL%20EXTRACTO%20ATOMIZADO%20DE%20Lepidium%20meyanii%20Walp%20%28maca%20morada%29%20SOBRE%20CEPAS%20DE%20Escherichia%20coli%20EN%20ESTUDIOS%20IN%20VITRO%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
5. Caroy Quispe Y. “Látex de la planta *Synadenium grantii Hook* para la remoción de Coliformes Termotolerantes y *Escherichia coli* de las aguas del río Chumbao, distrito de Andahuaylas, 2020” [Tesis]. Lima, Perú: Universidad César Vallejo. 2021. Disponible en:
https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/81849/Caroy_QYW-SD.pdf?sequence=1

6. Miranda Barros, A. Estudio fitoquímico, y evaluación de la actividad citotóxica y antimicrobiana *in vitro* del látex de *Euphorbia laurifolia* en patógenos dérmicos [Tesis]. Riobamba, Ecuador: Universidad Superior Politécnica de Chimborazo. 2016. Disponible en:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4011/1/56T00534%20UDCTFC.pdf>
7. Rwegoshora, F. Antimicrobial activity study and chemical characterization of pure compounds from *Synadenium glaucescens Pax*. [Master thesis]. Morogoro, Tanzania: University of Agriculture; 2017. Disponible en:
<http://www.suaire.sua.ac.tz/bitstream/handle/123456789/2164/FRANK-%20MSc%20DISSERTATION%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
8. Cavero Alvia, A. Efecto antimicrobiano *in vitro* del látex de *Synadenium grantii Hook*, frente a *Escherichia coli*. [Tesis]. Sullana, Perú: Universidad San Pedro. 2018. Disponible en:
http://repositorio.usanpedro.edu.pe/bitstream/handle/USANPEDRO/10752/Tesis_60991.pdf?sequence=1&isAllowed=y
9. Corrales Ramírez L, Castillo Castañeda A, Melo Vargas A. Evaluación del potencial antibacterial *in vitro* de *Croton lechleri* frente a aislamientos bacterianos de pacientes con úlceras cutáneas [Tesis]. Bogotá, Colombia: Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá. 2016. Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702013000100006
10. Nino J, Mosquera O, Correa Y. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos crudos de plantas de la biodiversidad colombiana. [Tesis]. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica. 2016. Disponible en:
https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77442012000400011&script=sci_abstract&tlng=es
11. Achahuanco Casa M, Aragón Portugal P. Actividad antibacteriana *in vitro* de los extractos etanólico y glicólico de las hojas de la especie vegetal *Flourenzia Polycephala* M.O. Dillon (Phauca) sobre cepas

ATCC de *Staphylococcus aureus* y *Propionibacterium acnés*, y su relación con la actividad antioxidante [Tesis]. Cuzco, Perú: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. 2016. Disponible en:

<http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/1686/253T20150131.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

12. Ñañez Champi j, Vivas Osorio E. Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de corteza de *Ficus citrifolia* Mill. frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 [Tesis]. Lima, Perú: Universidad María Auxiliadora. 2021. Disponible en:

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

13. Calachua Oyoquipa O. Efecto antibacteriano *in vitro* de extractos de *Ruta graveolens* en *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* [Tesis] Arequipa, Perú: Universidad Nacional de San Agustín (2019). Disponible en:

<http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/10433/Blcaoyof.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

14. Rodríguez Quezada M, Gamarra Torres O, Pérez Azahuanche F. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana de los extractos de seis plantas medicinales usadas en Amazonas [Tesis] Amazonas, Perú: Artículo Medicina Naturalista (2020). Disponible en:

[file:///C:/Users/Windows/Downloads/Dialnet-](file:///C:/Users/Windows/Downloads/Dialnet-TamizajeFitoquimicoYActividadAntibacterianaDeLosEx-7747848.pdf)

[TamizajeFitoquimicoYActividadAntibacterianaDeLosEx-7747848.pdf](file:///C:/Users/Windows/Downloads/Dialnet-TamizajeFitoquimicoYActividadAntibacterianaDeLosEx-7747848.pdf)

15. Plazas Gonzalez EA. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana *in vitro* de extractos y fracciones de tres especies colombianas del género *Hypericum* [Tesis]. Bogotá, Colombia: Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2017. Disponible en:

<http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v22n1/pla04117.pdf>

16. Coronado W, Valerio Gonzalez L, D'Armas H. Tamizaje fitoquímico y actividad antibacteriana preliminar de los extractos de la macroalga *Laurencia dendroidea*, J. Agardh, 1841 (Rhodomelaceae: Rhodophyta) [Tesis]. Cumaná, Venezuela: Universidad de Oriente. 2016. Disponible en:
<http://ve.scielo.org/pdf/saber/v27n1/art08.pdf>
17. Ochoa Amado L, Sarmiento Mora A. Estudio fitoquímico de la especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (L. f) DC. (Melastomataceae) y evaluación de su actividad biológica. [Tesis]. Bogotá D.C.: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales – U.D.C.A. 2018. Disponible en:
<https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/996/TESIS%202018-05-22.pdf;jsessionid=344AB7B6D2A97BE9738F90DD5093C955?sequence=1>
18. Hernández Torres C, Hernández Torres M. Las pruebas de sensibilidad antibacteriana de extractos vegetales en cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* [Tesis] Cajamarca, Perú: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo (2018). Disponible en:
<http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/742/FyB-012-2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
19. Mendoza Salas P, Aguirre Torres D. Efecto antibacteriano in vitro del extracto hidroalcohólico de *Equisetum giganteum* L. (cola de caballo) frente a cepas de *Salmonella enteritidis* y *Shigella dysenteriae*.
20. Kuklinski C. Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural [Internet]. España: Editorial Omega; 2000 [citado 08 de septiembre de 2021]. Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=180062>
21. Hernández R, Fernández C, Baptista M. Metodología de la investigación [Internet]. 6th ed. México: Editorial Interamericana S.A. de C.V.; 2014 [citado 11 de septiembre de 2021]. Disponible en:
<https://www.uca.ac.cr/wp-content/uploads/2017/10/Investigacion.pdf>
22. Paredes F, Roca JJ. Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. Elsevier [Internet]. 2004 Mar [citado el 29 de agosto de 2021]; 23(3): 116-124. Disponible en:

<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-accion-antibioticos-perspectiva-medicacion-antimicrobiana-13059414>

23. Araya I, Prat S. Recomendaciones para el control de calidad en bacteriología: Estudio de susceptibilidad antimicrobiana mediante difusión en disco. Dep Lab Bio Nac y Ref [Internet]. 2015 Mar [citado el 12 de septiembre de 2021]. Disponible en:
https://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendacion_Contro_Calidad_Bacteriologia.pdf
24. Jean-Philippe Le Loc'h. Lista de plantas medicinales comunes en la subregión andina [Internet]. 1st ed. Lima, Perú: Editorial Letera Gráfica; 2016 [citado 26 agosto de 2017]. Disponible en:
<https://www.orasconhu.org/sites/default/files/LIBRO%20PLANTAS%20COMUNES.pdf>
25. De la Rosa TH, Pacheco Asto JR. Elaboración de un jabón líquido a partir del extracto glicólico de las hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray con acción antibacterial [Tesis]. Ica, Perú: Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica (2017). Disponible en:
<https://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/UNICA/2291/500.110.0000063.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
26. Lozada MA. Estudio fitoquímico y evaluación de actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC: 25923, *Streptococcus mutans* ATCC:25175, *Streptococcus pneumoniae* ATCC: 49619, *Streptococcus pyogenes* ATCC:19615 de los extractos apolares (cloroformo-hexano) de *Croton elegans* Kunth (mosquera)[Tesis]. Quito, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana (2016). Disponible en:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13534/1/UPS-QT11203.pdf>
27. Guerrero MA. Efecto inhibitorio de sangre de grado (*Croton lechleri*) con tomillo (*Thymus vulgaris* L.) a diferentes concentraciones sobre cepas de *Staphylococcus aureus*, estudios in vitro. [Tesis]. Quito, Ecuador: Universidad Central del Ecuador (2019). Disponible en:
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/18695/1/T-UCE-0015-ODO-165.pdf>

28. Godoy G. et al. Potencial antimicrobiano del látex de *Croton gossypifolius* (*Euphorbiaceae*) sobre especies asociadas a infecciones en humanos. [Tesis]. Maracay, Venezuela: Universidad de Carabobo (2020). Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v27n1/2413-3299-arnal-27-01-247.pdf>
29. Espinoza CM. Serna ZD. Efecto antibacteriano in vitro del látex de *Croton lechleri* Mull. Arg. (Sangre de grado) frente a *Staphylococcus aureus*. [Tesis]. Lima, Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega (2018). Disponible en:
<http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2985/Tesis%20SERNA%20QUISPE%20-%20ESPINOZA%20%20RIVERA.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
30. Espadero 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*. [Tesis]. Quito, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana de Ecuador (2019). Disponible en:
<https://www.redalyc.org/journal/4760/476058342010/html/>
31. Laureano HS. Martínez LV. Actividad antibacteriana in vitro del látex de *Synadenium grantii* (Planta de la vida) frente a *Salmonella entérica* ATCC 51741. [Tesis]. Lima, Perú: Universidad María Auxiliadora (2021). Disponible en:
[file:///D:/de%20hp/BACHILLER/tTESIS/ACTIVIDAD%20ANTIBACTERIANA%20In%20vitro%20DEL%20L%C3%81TEX%20DE%20Synadenium%20grantii%20\(PLANTA%20DE%20LA%20VIDA\)%20FRENTE%20A%20Salmonella%20ent%C3%A9rica%20ATCC%2051741.pdf](file:///D:/de%20hp/BACHILLER/tTESIS/ACTIVIDAD%20ANTIBACTERIANA%20In%20vitro%20DEL%20L%C3%81TEX%20DE%20Synadenium%20grantii%20(PLANTA%20DE%20LA%20VIDA)%20FRENTE%20A%20Salmonella%20ent%C3%A9rica%20ATCC%2051741.pdf)
32. Grandez F, Gilberto. La planta de la vida *Synadenium grantii* Hook [Internet]. Lima: Editorial Altagraf S.A.; 2010 [citado 28 de agosto de 2021]. Disponible en:
<https://kukuprojekt.files.wordpress.com/2014/08/libro-synadenium-grantii-hook.pdf>

33. Ramírez Aristizábal LS, Marín Castaño D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. 2009; Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/849/84916714049.pdf>
34. Puente Contreras E, Torres Casanova SJ. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Curcuma longa L.*(palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. [Tesis] Lima, Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega (2018). Disponible en: http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2859/TESES_P%20UENTE%20CONTRERAS%20EMA%20EDITH%20%20TORRES%20CASANOVA%20SHIRLEY%20JEANETTE.pdf?sequence=3&isAllowed=y
35. Villardón JL V. Introducción al análisis de la varianza. :1–20. Disponible en: https://www.academia.edu/4164782/anova_3
36. García Huamán FT, Trauco MA. Efecto del extracto de plantas medicinales sobre el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Rev Inv Cient UNTRM [Internet] 2020 Oct [citado el 09 de marzo de 2022]; 3(3): 31-35. Disponible en: <file:///C:/Users/pc/Downloads/633-3545-1-PB.pdf>
37. Domingo D., López-Brea M. Plantas con acción antimicrobiana. Rev Esp Quimioterap [Internet] 2003 Dec [citado el 10 de marzo de 2022]; 16(4): 385-393. Disponible en: <https://seq.es/seq/0214-3429/16/4/385.pdf>

ANEXOS

ANEXO A: Instrumentos de recolección de datos

TABLA A: PRUEBA DE SOLUBILIDAD

N°	SOLVENTES	RESULTADO
1	ETANOL	
2	METANOL	
3	AGUA DESTILADA	
4	ACETIL CETONA	
5	CLOROFORMO	
7	BUTANOL	
LEYENDA <ul style="list-style-type: none">• INSOLUBLE (-)• POCO SOLUBLE (+)• SOLUBLE (++)• MUY SOLUBLE (+++)		

Fuente: Elaboración propia

TABLA B: PRUEBA MARCHA FITOQUÍMICA

MARCHA FITOQUÍMICA			
PRINCIPIO ACTIVO	PRUEBA	MÉTODO	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba cualitativa	Cualitativo	
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	
	Reacción de Mayer	Cualitativo	
	Reacción de Wagner	Cualitativo	
LACTONAS	Reacción de Baljet	Cualitativo	
FLAVONOIDES	Reacción de Ninhidrina	Cualitativo	
CARDENOLIDOS	Reacción de Kedde	Cualitativo	
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann- Burchard	Cualitativo	
SAPONINAS	Reacción de espuma	Cualitativo	
TANINOS	Reacción de cloruro férrico	Cualitativo	
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann- Burchard	Cualitativo	
FENOLES	Reacción de Cloruro férrico	Cualitativo	
LEYENDA:			
<ul style="list-style-type: none"> • REACCIÓN MUY EVIDENTE (+++) • REACCIÓN EVIDENTE (++) • REACCIÓN POCO EVIDENTE (+) • NO HUBO REACCIÓN (-) 			

Fuente: Elaboración propia

TABLA C: ENSAYO MICROBIOLÓGICO

MICROORGANISMO	EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la Vida)					
	LONGITUD DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm)					
	TIEMPO DE INCUBACIÓN : 24 HORAS					
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	NEOMICINA 30UG/ML	AGUA DESTILADA	25%	50%	75%	100%
PROMEDIO						

Fuente: Elaboración propia

ANEXO B: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Cuál será el resultado de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida), sobre cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739?	Determinar la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida) sobre cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.	El extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida) tiene actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
1.-¿Qué metabolitos secundarios en el tamizaje fitoquímico del extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida) serán los responsables en la actividad antibacteriana?	1.-Definir la presencia de metabolitos secundarios existentes en el extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida).	1.- El extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida) presenta metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.
2.-¿En qué concentración del extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida) tendrá la actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739?	2.-Identificar la concentración en la que muestra actividad antibacteriana el extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida) frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.	2.- El extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida) a las concentraciones de 25%, 50% 75% y 100% presenta actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.

ANEXO C: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
<p>INDEPENDIENTE Extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida).</p>	<p>Producto líquido que comprende los metabolitos secundarios de la especie vegetal.</p>	<p>Concentración del extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida).</p>	<p>Concentración a evaluar</p> <p>Marcha fitoquímica</p>	<p>Extracto glicólico en diferentes concentraciones</p> <p>Presencia de metabolitos secundarios</p>	<p>Nominal</p> <p>Nominal</p>	<p>4</p> <p>4</p>	<p>25%, 50% 75% 100%</p> <p>Muy evidente (+++) Evidente (++) Poco evidente (+) No hubo reacción (-)</p>
<p>DEPENDIENTE Actividad antibacteriana frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.</p>	<p>Capacidad de una sustancia para destruir los microorganismos o impedir su multiplicación o desarrollo de una población bacteriana.</p>	<p>Sensibilidad bacteriana frente al extracto glicólico de las hojas de <i>Synadenium grantii</i> Hook (Árbol de la vida).</p>	<p>Microbiológico</p>	<p>Medición de halos de inhibición.</p>	<p>Razón</p>	<p>2</p>	<p>Crecimiento</p> <p>No hubo crecimiento</p>

ANEXO D: Constancia de Estudio Taxonómico de la especie vegetal



INSTITUTO CIENTÍFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)
Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos

Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGGSPFFS



"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN DE MUESTRAS N° 003-2022

El Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD).

HACE CONSTAR:

Que la muestra presentada por las Srtas. **Marilú Arotaype Choquehuanca y Carmen Lisbeth Chambilla Álvarez**, estudiantes de la Universidad María Auxiliadora de Lima, recolectada en el distrito de La Joya - Majes - Pedregal, provincia de Arequipa, departamento de Arequipa con coordenadas de 16°21'31"S 72°11'27"W, para la realización de la tesis "**Actividad antibacteriana del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook (Árbol de la vida) sobre cepas de *Escherichia coli* in vitro**", fue determinada taxonómicamente en las instalaciones del Herbario Sur Peruano (HSP), del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD) y corresponde a:

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Orden: Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Euphorbiaceae Juss.

Género: *Euphorbia* L.

Especie: *Synadenium grantii* Hook

La clasificación se ha realizado según la propuesta por: *Angiosperm Phylogeny Group (APG) IV* en "*An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV*" (2016).

Se expide la presente, a solicitud de las interesadas, para los fines que estime conveniente.

Arequipa, 08 de abril del 2022



Dr. Blgo. Víctor Quipuscoa Silvestre

C. B. P. N° 2484

Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)

Herbario Sur Peruano (HSP)

vquipuscoas@hotmail.com

vquipuscoa@imod.org.pe



ANEXO E: Certificado de análisis de *Escherichia coli* ATCC 8739



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0483 Lot Number: 483-1122** Reference Number: ATCC® 8739™** Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2023/3/31 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Quevi Release Date: 2021/4/13</p>
Performance	
<p>Macroscopic Features: Medium to large, gray, mucoid, convex. Microscopic Features: Gram negative straight rod.</p>	<p>Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.</p>	<p>Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive</p>
 Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE	
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p>	
<p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p>	
<p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p>	
 <p>ATCC Accredited REFERENCE MATERIAL PRODUCER CERT #2655.02</p>	<p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p>
 <p>ATCC Licensed Derivative</p>	<p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.</p>
 <p>ATCC Accredited TESTING CERT #2655.01</p>	

ANEXO F: Evidencias fotográficas del trabajo de campo

TOMA DE MUESTRA

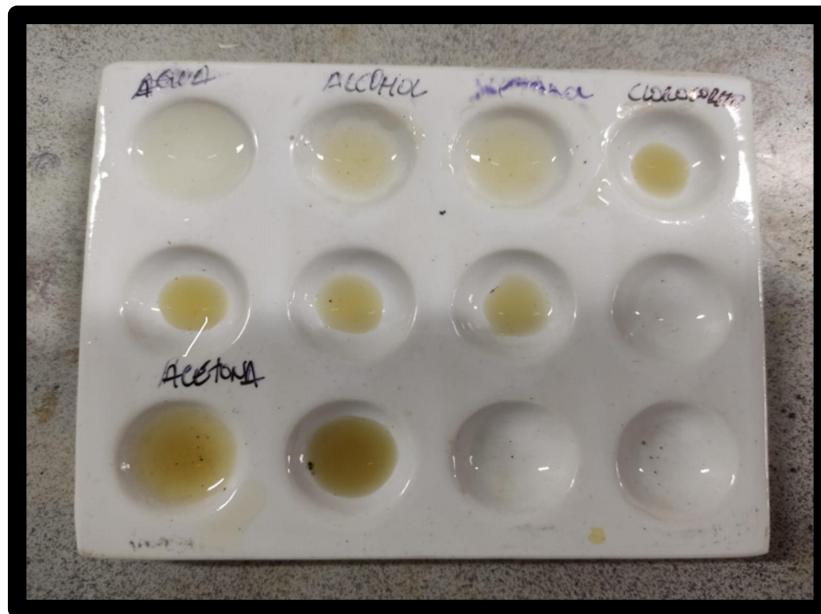


Fuente: Especie vegetal de *Synadenium grantii* Hook.

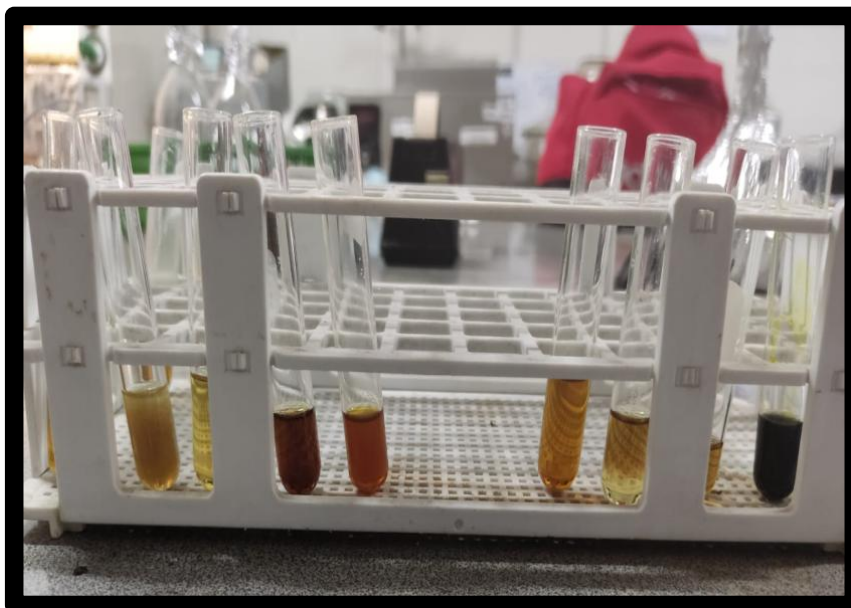


Fuente: Los investigadores en la recolección de las hojas de la especie vegetal
Synadenium grantii Hook.

ENSAYO DE SOLUBILIDAD



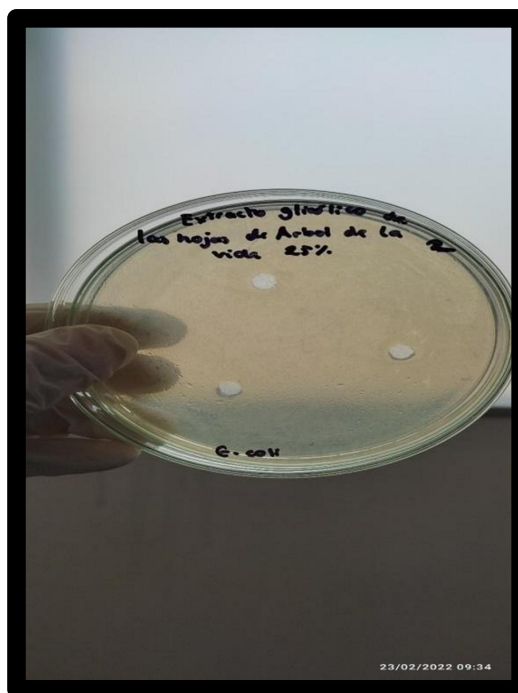
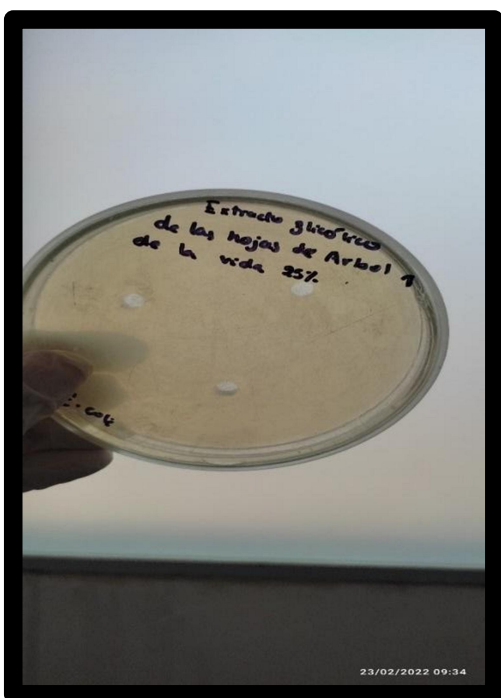
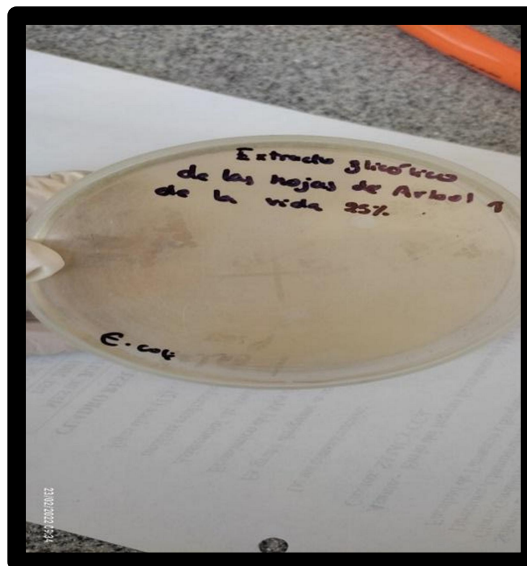
MARCHA FITOQUÍMICA



INCUBACIÓN Y LECTURA DE RESULTADOS

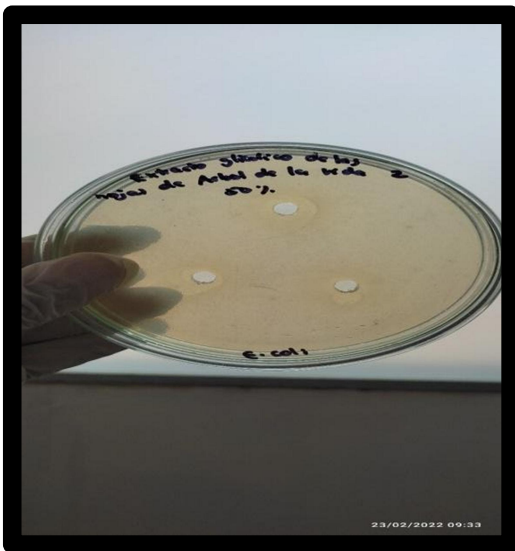
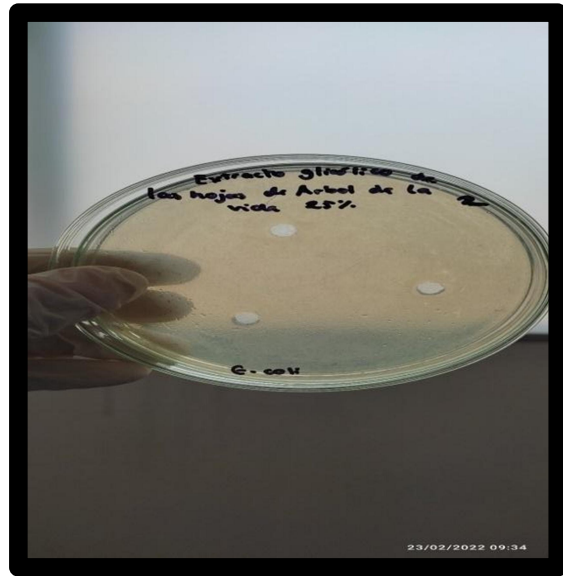


25%



Fuente: Resultados al 25% del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook.

50%



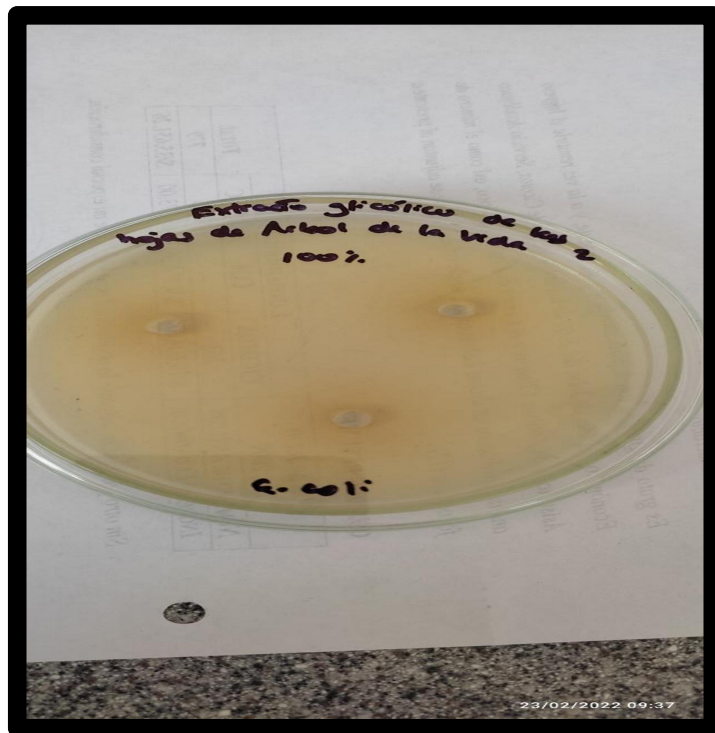
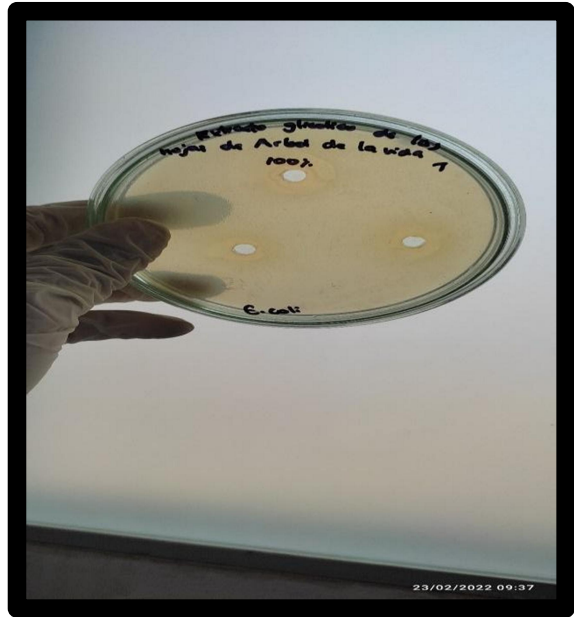
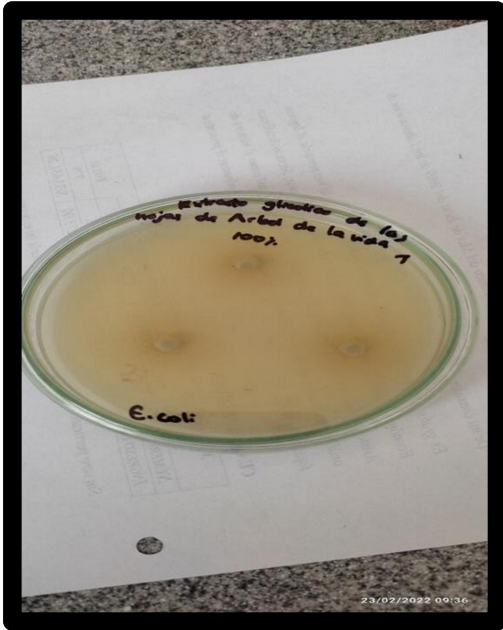
Fuente: Resultados al 50% del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook.

75%



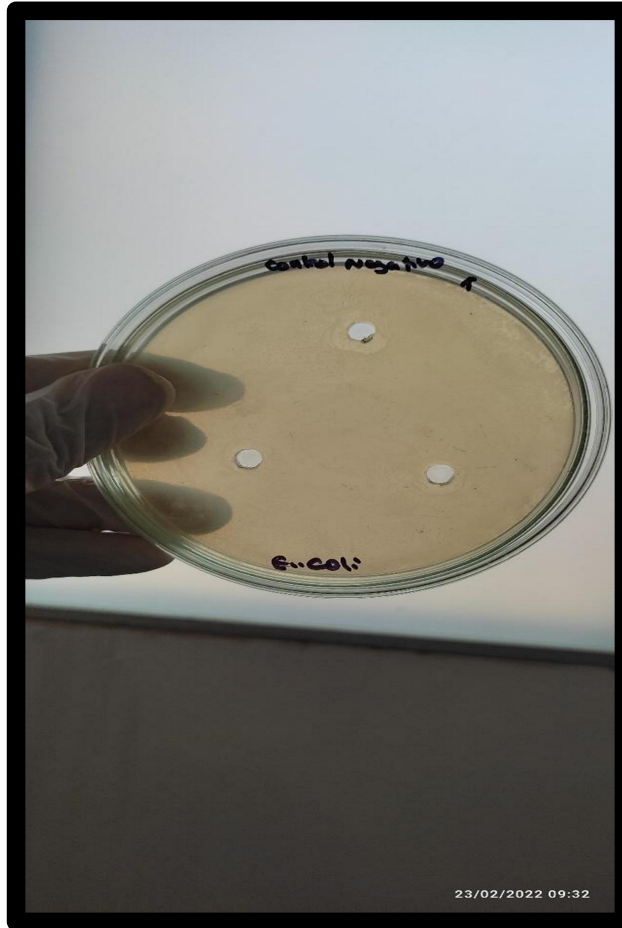
Fuente: Resultados al 75% del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook.

100%



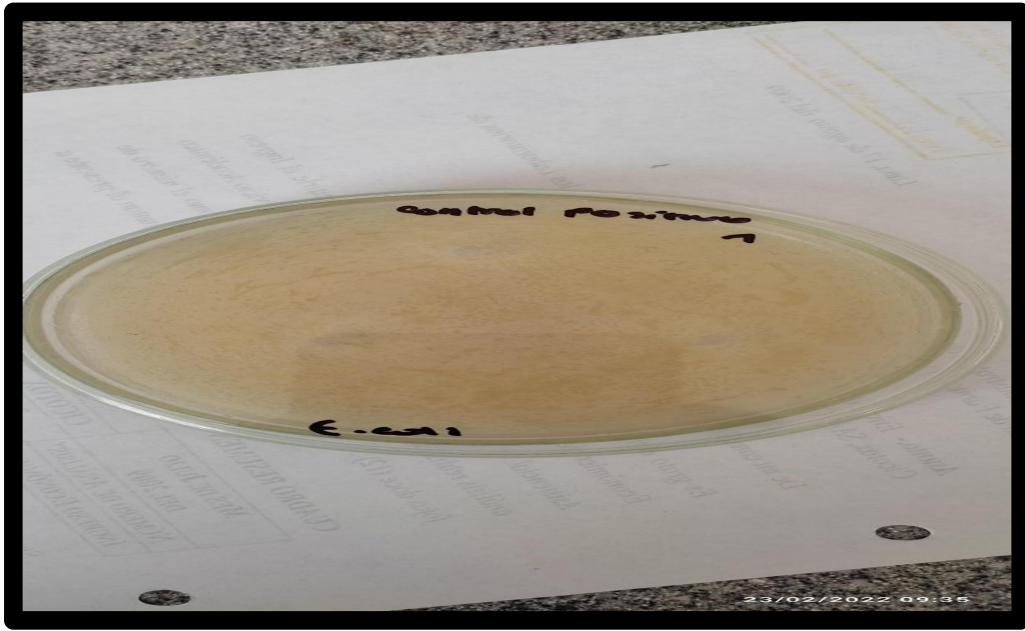
Fuente: Resultados al 100% del extracto glicólico de las hojas de *Synadenium grantii* Hook.

CONTROL NEGATIVO



Fuente: Resultados del control negativo (agua destilada).

CONTROL POSITIVO



Fuente: Resultados del control positivo de Neomicina 30 ug/ml.

CONTROL POSITIVO



Fuente: Resultados del control positivo con Neomicina 30 ug/ml.