



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

ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE MUÑA (*Minthostachys mollis*)
SOBRE LA CEPA DE *Escherichia coli* ATCC 25922

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTORES

BACH. REYNA KELLY PERALTA RODRIGUEZ

<https://orcid.org/0009-0003-9231-9202>

BACH. GIANCARLO FRANK CAMA ARIAS

<https://orcid.org/0009-0001-1658-6179>

ASESOR

Dr. JOSÉ EDWIN RODRIGUEZ LICHTENHELDT

<https://orcid.org/0000-0003-1876-6496>

Lima – Perú

2024

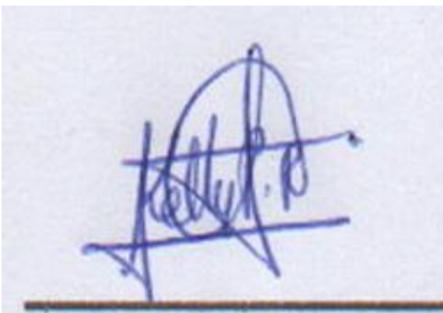
DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y ORIGINALIDAD

Yo, **Reyna Kelly Peralta Rodriguez**, con DNI **72550330** en mi condición de autor(a) de la tesis /trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el representada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico (grado o título profesional que corresponda) de título: **“Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas de muña (*minthostachys mollis*) sobre la cepa de *escherichia coli* atcc 25922”**, **AUTORIZO** a la Universidad Maria Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de **20%** y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

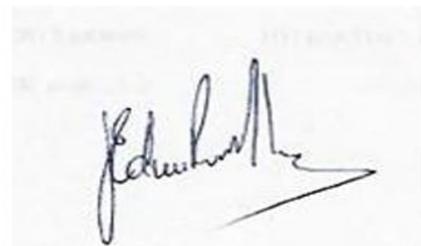
Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Arequipa, 18 de abril del 2024



REYNA KELLY PERALTA RODRIGUEZ

Firma del asesor:



RODRIGUEZ LICHTENHELDT, JOSE EDWIN

Firma del autor:

1. Apellidos y nombres
2. DNI
3. Grados y titulo
4. Título del trabajo de investigación
5. Porcentaje de similitud

Yo, **Giancarlo Frank Cama Arias**, con DNI **46932999** en mi condición de autor(a) de la tesis /trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el representada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico (grado o título profesional que corresponda) de título: **“Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas de muña (*minthostachys mollis*) sobre la cepa de *escherichia coli* atcc 25922”**, **AUTORIZO** a la Universidad Maria Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de **20%** y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Arequipa, 18 de abril del 2024

GIANCARLO FRANK CAMA ARIAS

Firma del asesor:

RODRIGUEZ LICHTENHELDT, JOSE EDWIN

Firma del autor:

1. Apellidos y nombres
2. DNI
3. Grados y título
4. Título del trabajo de investigación
5. Porcentaje de similitud

ANTIPLAGIO TESIS

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uma.edu.pe	7%
	Fuente de Internet	

2	hdl.handle.net	5%
	Fuente de Internet	

3	repositorio.ucv.edu.pe	2%
	Fuente de Internet	

4	repositorio.uap.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	

5	repositorio.uigv.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	

6	repositorio.upch.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	

7	repositorio.usanpedro.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	

8	repositorio.unfv.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	

DEDICATORIA

A Dios, por darme la sabiduría y salud para concluir satisfactoriamente mis estudios superiores.

A mis padres Vilma y Piter quienes con su paciencia, esfuerzo y sacrificio me brindaron su apoyo, alentándome a seguir adelante para convertirme en una persona fuerte y con principios sólidos, necesarios para cumplir uno de mis objetivos el culminar mi carrera profesional.

Reyna Kelly Peralta Rodríguez

A Dios, por bendecir mi camino brindándome salud y perseverancia.

A mis padres Rosa y José por su apoyo incondicional, siendo el principal soporte para la construcción de mi vida profesional.

A mis padrinos Leo y Vicky por estar siempre presente, apoyándome con sus palabras y consejos.

Giancarlo Frank Cama Arias

AGRADECIMIENTO

A la Universidad María Auxiliadora y a los docentes de nuestra casa de estudios, por sus consejos y brindarnos sus enseñanzas.

A nuestro asesor de Tesis Dr. José Edwin Rodríguez Lichtenheldt por brindarnos la oportunidad de recurrir a sus conocimientos científicos y de esta manera poder lograr el desarrollo de nuestra tesis para seguir así culminar nuestra carrera profesional.

Reyna Kelly Peralta Rodríguez
Giancarlo Frank Cama Arias

ÍNDICE GENERAL

	Páginas
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
I. INTRODUCCIÓN	10
II. MATERIALES Y MÉTODOS	17
II.1 Enfoque y diseño de la investigación.....	17
II.2 Población, muestra y muestreo	17
II.3 Variables de la investigación.....	18
II.4 Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	18
II.5 Plan metodológico para la recolección de datos.....	19
II.6 Procesamiento del análisis estadístico.....	22
II.7 Aspectos éticos.....	22
III. RESULTADOS	23
IV. DISCUSIÓN	32
IV.1 Discusión de resultados.....	32
IV.2 Conclusiones.....	35
IV.3 Recomendaciones.....	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	43
ANEXO A: Matriz de consistencia.....	44
ANEXO B: Operacionalización de las variables.....	46
ANEXO C: Ficha de Marcha Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de	

hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>).....	47
ANEXO D: Ficha de Análisis Microbiológico del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>).....	48
ANEXO E: Ficha de Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas Muña (<i>Mintostachys mollis</i>).....	49
ANEXO F: Evidencias de la obtención del extracto y obtención de la cepa de <i>E. coli</i> ATCC 25922.....	50
ANEXO G: Evidencias de la identificación de metabolitos secundarios	51
ANEXO H: Evidencias de los resultados de los halos de inhibición	55
ANEXO I: Constancia Taxonómica	57
ANEXO J: Constancia de obtención del extracto, identificación de metabolitos y análisis microbiológico.....	58
ANEXO K: Certificado de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	59

ÍNDICE DE TABLAS

		Páginas
Tabla 1	Identificación de metabolitos secundarios.....	20
Tabla 2	Resultados de la identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>).....	23
Tabla 3	Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>) y antibióticos sobre el crecimiento de la cepa <i>Escherichia coli</i>	24
Tabla 4	Análisis de varianza para comparación de halos de inhibición...	26

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Diagrama de cajas de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>) al 25%, 50%, 75%, antibióticos ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT), ceftriaxona (CTR), amikacina (AK) y blanco (DMSO).....	25
Figura 2. Pruebas de normalidad de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>).....	26
Figura 3. Gráfico de comparación múltiple de Tukey que compara los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>) al 25 %, 50%, 75 %, antibióticos ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT), ceftriaxona (CTR), amikacina (AK) y blanco (DMSO).....	27

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a la cepa de *E. coli* ATCC 25922.

Método: Se preparó un extracto hidroalcohólico de Muña, se realizaron las pruebas de tamizaje fitoquímico y evaluación de la actividad antibacteriana empleando diversos antibióticos como control positivo, aplicando el método del Método Kirby Bauer. Para establecer la similitud y diferencia de los grupos se procedió a realizar el test de Tukey

Resultado: El extracto hidroalcohólico con las hojas de Muña presentó actividad antibacteriana frente *E. coli* ATCC 25922, revelando halo de inhibición promedio de 16.68 mm al 25%, 17.92 mm al 50% y 18.81 mm al 75%, valores que al ser comparados con los antibióticos mediante el test de Tukey al 95% de confianza mostro que no hay diferencia significativa con la amikacina. El tamizaje fitoquímico identificó notable presencia de Fenoles; moderada presencia de taninos, flavonoides y poca presencia de alcaloides.

Conclusión: El extracto hidroalcohólico con las hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) presenta actividad antibacteriana frente a la cepa *E. coli* ATCC 25922 en sus diversas concentraciones, siendo el metabolito secundario mayoritario los Fenoles.

Palabras claves: actividad antibacteriana, *Minthostachys mollis*, extracto hidroalcohólico, *Escherichia coli*.

ABSTRAC

Objective: To evaluate the antibacterial activity of the hydroalcoholic extract of Muña leaves (*Minthostachys mollis*) against the *E. coli* strain ATCC 25922.

Method: A hydroalcoholic extract of Muña was prepared, phytochemical screening tests and evaluation of antibacterial activity were carried out using various antibiotics as a positive control, applying the Kirby Bauer Method. To establish the similarity and difference of the groups, the Tukey test was performed.

Result: The hydroalcoholic extract with Muña leaves presented antibacterial activity against *E. coli* ATCC 25922, revealing an average inhibition zone of 16.68 mm at 25%, 17.92 mm at 50% and 18.81 mm at 75%, values that when compared with antibiotics using the Tukey test at 95% confidence showed that there is no significant difference with amikacin. Phytochemical screening identified a notable presence of Phenols; moderate presence of tannins, flavonoids and little presence of alkaloids.

Conclusion: The hydroalcoholic extract with Muña leaves (*Minthostachys mollis*) presents antibacterial activity against the *E. coli* ATCC 25922 strain in its various concentrations, the majority secondary metabolite being Phenols.

Keywords: antibacterial activity, *Minthostachys mollis*, hydroalcoholic extract, *Escherichia coli*.

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos; también conocidas por sus siglas ETAs, son provocadas por la ingesta de agua o alimentos contaminados con microorganismos o sustancias químicas, a la fecha se considera que 1 de cada 10 personas en el mundo presentan un episodio de ETAs, reportándose al año un total de 420 mil muertes, de las cuales, 125 mil son niños^{1,2}. Esta situación es alarmante evidenciándose que la morbimortalidad dentro de los sistemas de Salud Pública de los diversos países es elevada. Asimismo, las ETAs constituyen un importante retraso laboral, ya que, las personas que las padecen suelen ausentarse de sus labores entre 2 días hasta 3 meses según el tipo de infección adquirida^{3,4}, siendo las más comunes la salmonelosis, shigelosis, intoxicación estafilocócica, triquinosis, listeriosis, gastroenteritis por *Escherichia coli* patógenas^{5, 6}, esta última es más común en países latinoamericanos, suele provocar enterocolitis cuyos síntomas aparecen 4 horas después de estar expuesto a alimentos o líquidos contaminados por heces, las personas infectadas suelen presentar diarrea, vómitos y fiebre leve⁷.

Otro de las preocupaciones y amenazas para la salud a nivel mundial es la resistencia bacteriana a los antibióticos, la cual se produce cuando las bacterias mutan en respuesta al uso de fármacos, generando resistencia por diversos mecanismos como disminuyendo la permeabilidad de su membrana, mediante sus bombas de expulsión permitiendo el ingreso de sustancias necesarias y eliminando la tóxicas, también pueden alterar el sitio donde se fija y actúa el antibiótico; impidiendo su acción y expresando enzimas que originan cambios en la estructura del antibiótico, haciendo que pierda su funcionalidad⁸. Esta condición puede afectar a cualquier persona, sin importar su edad, sexo o país en el que resida⁹. Si bien es cierto que la farmacorresistencia bacteriana es un fenómeno natural, esta se ve incrementada a consecuencia del uso indebido de los fármacos tanto en el ser humano como en los animales, lo cual ocasiona que se acelere dicho proceso. Este hecho se demuestra al observar que, cada vez, es mayor el número de casos registrados de personas que presentan infecciones, cuyos tratamientos se vuelven complicados a causa de la pérdida de eficacia de los antibióticos. Esta situación también origina que los pacientes

permanezcan mucho más tiempo en el área de hospitalización, lo cual conlleva al incremento de los costos médicos y sobre todo generan mayores tasas de morbi-mortalidad. Por esta razón la Organización Mundial de la Salud (OMS) desde el año 2017 viene publicando una lista de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos incluyendo 12 familias de bacterias más peligrosas para la salud humana y en unión con el Centro de control y prevención de enfermedades de los Estados Unidos (CDC) manifestaron en el 2020, que una de sus prioridades es el de luchar contra la resistencia antimicrobiana⁸.

El Perú es uno de los países que presenta cifras alarmantes de resistencia antimicrobiana (RAM), considerándose hoy en día como una grave amenaza de salud pública, ya que, diversos antibióticos utilizados para tratar infecciones bacterianas moderadas o graves no son de utilidad, tal es el caso del *S. aureus*, por presentar una resistencia a la meticilina (84%), penicilina (99%), eritromicina (80%) y clindamicina (75%). De igual manera, para *P. aeruginosa* cuya resistencia a todos los antimicrobianos sobrepasó el 30%. Asimismo, la *K. pneumoniae* muestra ser resistente en un 50% a la cefalosporina y la *E. coli* cuya mayor resistencia es a la ampicilina y fluoroquinolonas superando el 80% y 60% respectivamente^{10,11}, teniendo la capacidad de hidrolizar a las penicilinas, aminopenicilinas, monobactámicos, colistina, ureidopenicilinas y cefalosporinas de primera, segunda y tercera generaciones, aun si estas son administradas de forma cruzada, siendo sensibles frente a los carbapenémicos y de manera relativa a la piperacilina-tazobactam y a la cefepima¹²⁻¹⁴. Esta situación es preocupante, ya que, considerando que una de las formas de empleo en el país es la venta de alimentos en la vía pública; existiendo un gran abanico de comidas que se ofrecen sin el mayor control sanitario, sumado a que un gran porcentaje de la población no cuenta con agua y desagüe, establecen las condiciones necesarias para que los peruanos estén más expuestos a adquirir una ETAs¹⁵ En los últimos cinco años se han reportado 45 brotes de ETAs, de los cuales el 20% se originaron en Lima, el 10% en Junín, el 9.6% en Cajamarca, el 8.6% en Cusco, el 6% en Huánuco, el 5.6% en Loreto y el 4.7% en Piura, esta información fue registrada a través del sistema de vigilancia epidemiológica. Pese a que el Perú cuenta con diversas entidades nacionales, regionales y locales encargadas de tomar acciones dirigidas a vigilar, prevenir y controlar las ETAs, es el Centro

de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades los que realizan las coordinaciones para que sea un trabajo integrado y de esta manera se pueda intervenir este gran problema de salud pública. Lamentablemente, los esfuerzos no son suficientes, siendo los niños y ancianos la población más vulnerable, ya que suelen hacer una enfermedad diarreica aguda (EDA)¹⁶, incluso el Ministerio de Salud (MINSA) refiere que en el año 2022 se reportaron más de 270 mil episodios de EDA a nivel nacional, considerándose como la segunda causa de mortalidad en niños menores de 5 años, especialmente en zonas de bajos recursos¹⁷. Tampoco podemos olvidar el hecho de que en muchas ocasiones los antibióticos son comercializados y consumidos libremente, sin contar con la supervisión responsable y profesional de un médico, sumado a las deficiencias en el sector salud hace que las condiciones empeoren¹⁸. Por ello, es de suma importancia la realización de investigaciones que aporten información científica sobre las propiedades de los diversos recursos naturales, tal es el caso de la Muña (*Minthostachys mollis*) procedente del departamento de Arequipa, a quien se le atribuye empíricamente propiedades antibacterianas, sin embargo, estas tienen que ser demostradas, de esta manera se podrá dar a conocer sus beneficios brindando una alternativa de tratamiento que evite el incremento de la resistencia bacteriana.

Por lo mencionado, se plantea como problema general ¿Presentará actividad antibacteriana *in vitro* el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25%, 50% y 75%, frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922?

Como preguntas específicas tenemos:

- ¿Cuáles son los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) responsables de la actividad antibacteriana?
- ¿A qué concentración el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) presentará mayor actividad antibacteriana frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922?

- ¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Mintostachys mollis*) en sus diversas concentraciones comparado con el antibiótico ciprofloxacino?
- ¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Mintostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones comparado con el antibiótico Sulfametoxazol + trimetoprima?
- ¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Mintostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones comparado con el antibiótico ceftriaxona?
- ¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Mintostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones comparado con el antibiótico amikacina?

Se define como actividad antibacteriana a la acción de matar o inhibir la multiplicación bacteriana patógena de un compuesto; el cual es obtenido ya sea de forma biosintética o natural¹⁹.

El extracto hidroalcohólico de Muña (*Mintostachys mollis*) es una solución que se obtiene aplicando la técnica de extracción de una parte de la materia prima (hojas), para lo cual es necesario hacer uso del solvente etanol de esta manera se logra solubilizar los componentes presentes en la muestra.

Entre los antecedentes a nivel internacional tenemos:

Cecchinib M., et al (2021) buscaron “obtener una nanoemulsión basada en AE de *M. verticillata* y evaluar su actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*” La muestra se obtuvo en una tienda comercial en Argentina. Los resultados evidencian que la nanoemulsión del extracto etanólico de Muña, presenta actividad antibacteriana frente a *S. aureus* ATCC29213²⁰.

Hernández A., et al. (2021) Buscaron conocer los metabolitos secundarios presentes en las especies Lamiaceae en México. Para ello realizaron una búsqueda bibliográfica de 1200 artículos de los cuales se seccionaron 217 artículos ya que reconocen al género y especies mexicanas. Concluyendo que los constituyentes bioactivos de estos géneros fueron principalmente terpenos (volátiles y no volátiles) y compuestos fenólicos como los flavonoides (glucósidos y agliconas)²¹.

Faraone I, et al (2020) buscaron determinar los metabolitos y la capacidad antioxidante relativa del Acetato de etilo de la Muña. La muestra se obtuvo de los cultivos en Italia. Concluyendo que el análisis de cromatografía líquida y espectrometría de masas en tándem de la fracción de acetato de etilo mostró más de 30 compuestos polifenólicos, incluidos triterpenos²².

Entre los antecedentes a nivel nacional tenemos:

Aparicio M. (2022) buscaron “evaluar la susceptibilidad de 34 cepas bacterianas de *Aeromonas spp.*, frente a aceites esenciales de muña, molle y limón, las cuales fueron cultivadas en Cajamarca. Aplicaron el método de difusión en agar, los resultados evidenciaron que el aceite esencial de muña, a una concentración del 15%, presentó halos de inhibición de 16.466 ± 0.840 mm de diámetro a diferencia de los aceites de molle y limón que mostraron actividad moderada, concluyendo que los aceites de muña, molle y limón presentan fuerte actividad antibacteriana frente a las cepas patogénicas de *Aeromonas spp*²³.

Sánchez M., et al. (2021) buscaron determinar el “Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Griseb) L. frente a *Streptococcus*

mutans and *Lactobacillus acidophilus*". La muestra de muña fue recolectada en Tacna. Sus resultados evidenciaron que aceite de Muña inhibió el crecimiento de *Streptococcus mutans* obteniendo halos de inhibición de 19,040 mm y para *Lactobacillus acidophilus* 18,008 mm, concluyendo que aceite esencial de *Minthostachys mollis* presenta actividad antibacteriana, siendo los terpenos los que le confieren dicha propiedad²⁴.

Barón Y., et al (2021) tuvo como objetivo "Demostrar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*", la muestra fue recolectada en Cajamarca, para determinar la actividad antibacteriana se aplicó la técnica de arrastre de vapor y la técnica de difusión en pozo, se obtuvo que el aceite de Muña al 50% tuvo halos de inhibición promedio de 6.02 mm, al 75% halos de 11,57 mm y al 100% halos de 14.20 mm concluyendo que el aceite esencial de Muña (*Minthostachys mollis*) solo presento eficacia al 75 y 100 % frente a *Staphylococcus aureus*²⁵.

El estudio presenta una justificación teórica, ya que, permite obtener información científica confiable sobre las propiedades antibacterianas de la Muña (*Minthostachys mollis*), proveniente del departamento de Arequipa, la misma que servirá de antecedentes para diversos investigadores en el área de salud. Asimismo, presenta una justificación práctica, ya que, dicho conocimiento contribuye a la realización de investigaciones enfocadas a la preparación de un producto farmacológico, los cuales presenten un nulo o mínimo riesgo de efectos secundarios por ser en base a un recurso natural. De igual manera tiene una justificación metodológica, ya que, se corrobora que tanto el análisis fitoquímico descrito por Olga Locket como el Método Kirby Bauer descrita por Bauer, Kirby, Sherris y Turk son técnicas que brindan resultados científicos confiables, Finalmente presenta una justificación Social, ya que, gracias al estudio, la población podrá corroborar los beneficios de la Muña atribuidos empíricamente.

La presente investigación tiene por objetivo general: "Evaluar la actividad antibacteriana el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25%, 50% y 75%, frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922".

Como objetivos específicas tenemos:

- Determinar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*).
- Determinar a qué concentración el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) presenta mayor actividad antibacteriana frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diversas concentraciones comparado con el antibiótico ciprofloxacino.
- Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones comparado con el antibiótico Sulfametoxazol + trimetoprima.
- Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones comparado con el antibiótico ceftriaxona.
- Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones comparado con el antibiótico amikacina.

El presente trabajo de investigación presenta la siguiente hipótesis general: El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25%, 50% y 75% presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Como hipótesis específicas tenemos:

- El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

- El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) posee actividad antibacteriana a mayor concentración frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico ciprofloxacino.
- La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico Sulfametoxazol + trimetoprima.
- La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico ceftriaxona.
- La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico amikacina.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación

La investigación presenta un enfoque cuantitativo ya que los resultados obtenidos sobre la actividad antibacteriana del extracto de Muña (*Minthostachys mollis*) son expresados con valores numéricos. El diseño es experimental debido a que se manipuló la variable independiente bajo condiciones controladas, haciendo uso de instrumentos tecnológicos para asegurar la obtención de resultados exactos. Asimismo, es de nivel explicativo ya que se buscó dar explicación de la relación causa y efecto que presentan las variables de estudio. Finalmente es transversal, ya que la medición de la variable independiente fue en un solo momento²⁶.

II.2. Población, muestra y muestreo

La población de estudio estuvo conformada por 4 kg de hojas del recurso vegetal Muña (*Minthostachys mollis*) procedente del distrito de Chiguata del departamento de Arequipa a una altitud de 2946 m.s.n.m.

La muestra estuvo conformada por 2 kg de hojas del recurso vegetal Muña (*Minthostachys mollis*)

Criterios de Inclusión de la Muestra:

- Hojas de la Muña (*Minthostachys mollis*) que se encuentren libres de algún defecto producido por envejecimiento.
- Hojas de la Muña (*Minthostachys mollis*) que se encuentren sanos.

Criterios de exclusión de la Muestra:

- Hojas de la Muña (*Minthostachys mollis*) que estén infectado por plagas
- Hojas de la Muña (*Minthostachys mollis*) que procedan de un lugar diferente al distrito de Chiguata del departamento de Arequipa.

Asimismo, la muestra microbiológica estuvo conformada por la cepa de *E. coli* ATCC 25922, proporcionada por el docente investigador Elvis Gilmer Gonzales Condori de los laboratorios de la Universidad Tecnológica del Perú en Arequipa.

El tipo de muestreo es no probabilístico, ya que la selección de las hojas de la Muña (*Minthostachys mollis*) fue intencional y por conveniencia, teniendo en consideración los criterios de inclusión y exclusión descritos anteriormente.

II.3. Variables de investigación

Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*)

Definición conceptual: Es la obtención de una solución del recurso vegetal en estudio, haciendo uso de la técnica de extracción por Soxhlet, se procedió a la extracción con 150ml de etanol. La extracción duro 8 horas que fue donde el cartucho ya no daba coloración al contacto del etanol²⁷.

Definición operacional: Es una solución obtenida a base del “extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*)” a diferentes concentraciones.

Variable dependiente: Actividad antibacteriana

Definición conceptual: Es un compuesto que se obtiene de forma biosintética o natural, cuya acción es la de matar o inhibir la multiplicación bacteriana^{28,29}.

Definición operacional: Es un compuesto que se obtiene del “extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*)” cuya acción es la de matar o inhibir que la cepa *Escherichia coli* se multiplique, este resultado es medido por difusión agar Kirby-Bauer.

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

El instrumento utilizado fue una ficha de recolección de datos para la “prueba de solubilidad, marcha fitoquímica y actividad antibacteriana” del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*).

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

El procedimiento para la realización del estudio consiste en:

a) Obtención y Selección de la Muestra:

La Muña (*Minthostachys mollis*) fue obtenida del distrito de Chiguata del departamento de Arequipa durante el mes de junio se procedió a seleccionar dos kilos de hojas del recurso vegetal en buenas condiciones, separando las que tuvieron signos de estar dañadas, contaminadas por plagas o envejecidas, para posteriormente pasar a lavarlos con agua destilada y eliminar las partículas de polvo y tierra.

b) Identificación taxonómica de la Muestra:

Se realizó la identificación taxonómica del recurso vegetal en la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, quien nos proporcionó una Constancia donde acredite que la muestra en estudio corresponde a la especie *Minthostachys mollis* (Anexo I).

c) Obtención del extracto:

La muestra seleccionada fue depositada en una fuente de acero inoxidable, luego fue llevada a una estufa a 37°C por un periodo no mayor a 48 horas, luego se procedió a “triturarlas con ayuda de un molino y se tamizó con la finalidad de tener partículas de tamaño homogéneo”, posteriormente Se pesaron 10 g del pulverizado de hojas de muña y se empaquetaron en papel filtro de porosidad alta. El empaque se llevó a la cámara de extracción de un equipo Soxhlet y se procedió a la extracción con 150 mL etanol . La extracción duró 8 horas que fue donde el cartucho ya no daba coloración al contacto con

el etanol. Finalizada la extracción por Soxhlet se llevó el extracto a un balón de 500 mL y se conectó este a un Rotavapor donde se llevó a cabo la concentración del extracto hasta 10 mL. Posteriormente, los 10 mL del extracto se llevaron a un vaso de precipitados donde se completó la evaporación del extracto hasta sequedad (Anexo F) ^{30,31}.

d) Prueba de solubilidad:

Para determinar la solubilidad del extracto es necesario hacer uso de solventes como: Cloroformo, metano, éter de petróleo, n-Hexano, etanol, y agua destilada. La forma de prepararlo es colocando 1ml de cada solvente con 5 mg del extracto seco y se visualizará si es o no soluble³².

e) Identificación de metabolitos secundarios:

Para la identificación de los principales metabolitos secundarios presentes en las hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) fue necesario la aplicación de varios reactivos según corresponda a cada prueba^{20,30,31} (Anexo G) para lo cual se pesó 1 g del extracto seco y se disolvió en una fiola de 10 mL con etanol (Tabla 1)

TABLA 1: Identificación de metabolitos secundarios

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN	PROCEDIMIENTO	REACCIÓN POSITIVA
Alcaloides	Reacción de Dragendorff	Colocar 2 gotas de la muestra, luego se adiciona dos gotas de reactivo	Se forma un precipitado
Flavonoides	Reacción de Shinoda	Colocar 1 ml de muestra, luego se añadirá una pequeña limadura de magnesio y 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado al 37%.	Presencia de burbujas y cambio de color
Esteroles	Reacción de Libermann-Burchard	Colocar 2 gotas de la muestra, luego adicionar 3 gotas de anhídrido acético y 2 gotas de ácido sulfúrico.	Se produce cambio de color
Saponinas	Prueba de la espuma	Colocar 1 ml de la muestra, luego se procederá a agitar 1 minuto.	La espuma se mantiene por más de un minuto
Taninos	Cloruro férrico al 5 %	Colocar 3 ml de muestra, luego se agregarán gotas de cloruro de férrico al 5%	Se produce un precipitado
Fenoles	Reacción de Folín Ciocalteu	Colocar 2 gotas de muestra, luego se adicionará 1 gota de reactivo de Folín y 2 gotas de carbonato de sodio al 7.5 %.	Se produce cambio de color a azul
Antocianinas	NaOH al 10%	colocar 1 ml de muestra y después adicionar unas gotas de reactivo	Se produce cambio de color

Fuente: Elaboración basada en Curinambe W y Zelada I.³⁰

f) Determinación de la sensibilidad antibacteriana

Para determinar la sensibilidad antibacteriana primero se adquirió con el Docente investigador Elvis Gilmar Gonzales Condoris la cepa de *E. coli*

ATCC 25922. Esta fue activada en Agar Mueller Hinton y después de 48 hrs de incubación se obtuvo el crecimiento de la cepa (Anexo J).

g) Preparación del inóculo

Se preparó un inóculo bacteriano en suero fisiológico utilizando la cepa de *E. coli* ATCC 25922. El procedimiento se realizó en un tubo de ensayo donde se agregaron colonias y se agitaron hasta que la turbidez de la suspensión fue equivalente a la turbidez del tubo 0.5 de la escala de Mc Farland (1×10^8 UFC/mL). De este tubo se adicionaron 100 μ L de inóculo bacteriano a placas de Mueller Hinton donde con un asa de Colle se realizaron sembrados por estría en ángulo recto.

h) Preparación de concentraciones del extracto

Para la preparación de los extractos a concentraciones de 25%, 50% y 75% se pesaron 0.25, 0.50 y 0.75 g del extracto seco y se suspendió en 1 mL de DMSO.

i) Método Kirby Bauer

Posterior al sembrado de la placa se agregaron discos que fueron preparados sumergiendo cada disco de 6 mm de diámetro en tubos de ensayo que contenían el extracto de Muña a 25%, 50% y 75% suspendidas en dimetilsulfóxido (DMSO). Los discos se pusieron de forma equidistantes en la placa y se adicionó un disco impregnado con DMSO como blanco o control. Luego se llevaron a incubación por 24 horas a 37°C en una incubadora. El proceso se realizó por triplicado.

También, se realizaron pruebas con antibióticos utilizando discos con ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT), ceftriaxona (CTR) y amikacina (AK) y se procedió de la misma forma que en el párrafo anterior. (Anexo H).

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

Los resultados de los halos de inhibición se expresaron como promedio y desviación estándar. El análisis estadístico consistió en una prueba de normalidad, análisis de varianza y prueba confirmatoria de Tukey. El nivel de significancia fue del 95 %. Una probabilidad $p < 0.05$ se consideró como diferencia significativa³⁹.

II.7. Aspectos éticos

Para la ejecución del presente trabajo se consideró cumplir con las recomendaciones señaladas en el Manual de las Buenas Prácticas de Laboratorio, donde hace hincapié en la prevención de posibles riesgos que podría sufrir el investigador, debido que frecuentemente está expuesto a agentes contaminantes, por lo cual es importante el tener una indumentaria adecuada para poder manipular reactivos y la cepas bacterianas como la *Escherichia coli*, asimismo, una vez culminado el trabajo se debe cumplir como los protocolos de seguridad al medio ambiente además, eliminando adecuadamente los residuos⁴⁰.

I. RESULTADOS PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

III.1 Marcha fitoquímica:

Tabla 2. Resultados de la identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*)

Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Resultado	Observación
Alcaloides	Reacción de Dragendorff	+	Formó un precipitado
Flavonoides	Reacción de Shinoda	++	Presencia de burbujas y cambio de color
Esteroles	Reacción de Libermann- Burchard	-	No se produce cambio de color
Saponinas	Prueba de la espuma	-	No se produjo espuma
Taninos	Cloruro férrico	++	Se produce un precipitado
Fenoles	Reacción con Folin y carbonato de sodio	+++	Se produce cambio de color
Antocianinas	NaOH al 10%	-	No se produce cambio de color

Leyenda:

(-) La coloración o precipitado no se evidencia

(+) La coloración o precipitado se evidencia poco

(++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente

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

Fuente: Propia

En la tabla N° 2, se muestra los diferentes ensayos empleados para identificar los metabolitos secundarios, evidenciándose una notable presencia (+++) de fenoles; presencia moderada (++) de taninos y flavonoides, y poca presencia (+) de alcaloides; asimismo ausencia de esteroles, saponinas y antocianinas.

PRUEBA DE SOLUBILIDAD:

Solubilidad de las hojas de Muña (*Minthostachys mollis*)

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

Leyenda:

(-) No soluble o insoluble

(+) Poco soluble

(++) Mediano o moderadamente soluble

(+++) Completamente soluble

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

III.2 Actividad antibacteriana:

Tabla 3. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) y antibióticos sobre el crecimiento de la cepa *Escherichia coli*.

Repetición	Halos de inhibición (mm)							
	Blanco	Antibióticos				Extracto		
	DMSO	CIP	COT	CTR	AK	75 %	50 %	25 %
1	6	32.47	29.98	28.77	17.84	18.43	17.73	16.62
2	6	33.05	31.19	29.86	17.23	18.98	18.12	17.14
3	6	32.69	31.89	28.45	18.12	19.02	17.88	16.27
Promedio	6	32.74	31.02	29.03	17.73	18.81	17.91	16.68
Desviación Estándar	0	0.29	0.97	0.74	0.46	0.33	0.20	0.44

Fuente: Propia

En la Tabla 3 se presentan los halos de inhibición para los antibióticos ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT), ceftriaxona (CTR) y amikacina (AK) los cuales fueron de 32.74 ± 0.29 mm, 31.02 ± 0.97 mm, 29.03 ± 0.74 mm, 17.73 ± 0.46 mm, respectivamente. No se presentó halo de inhibición en el blanco que consistió en dimetilsulfóxido (DMSO) por lo que se consideró 6 mm que corresponde al diámetro del disco. Los extractos disueltos en DMSO a concentraciones de 75 %, 50 % y 25 % dieron halos de inhibición de 18.81 ± 0.33 mm, 17.92 ± 0.20 mm y 16.68 ± 0.44 mm, respectivamente.

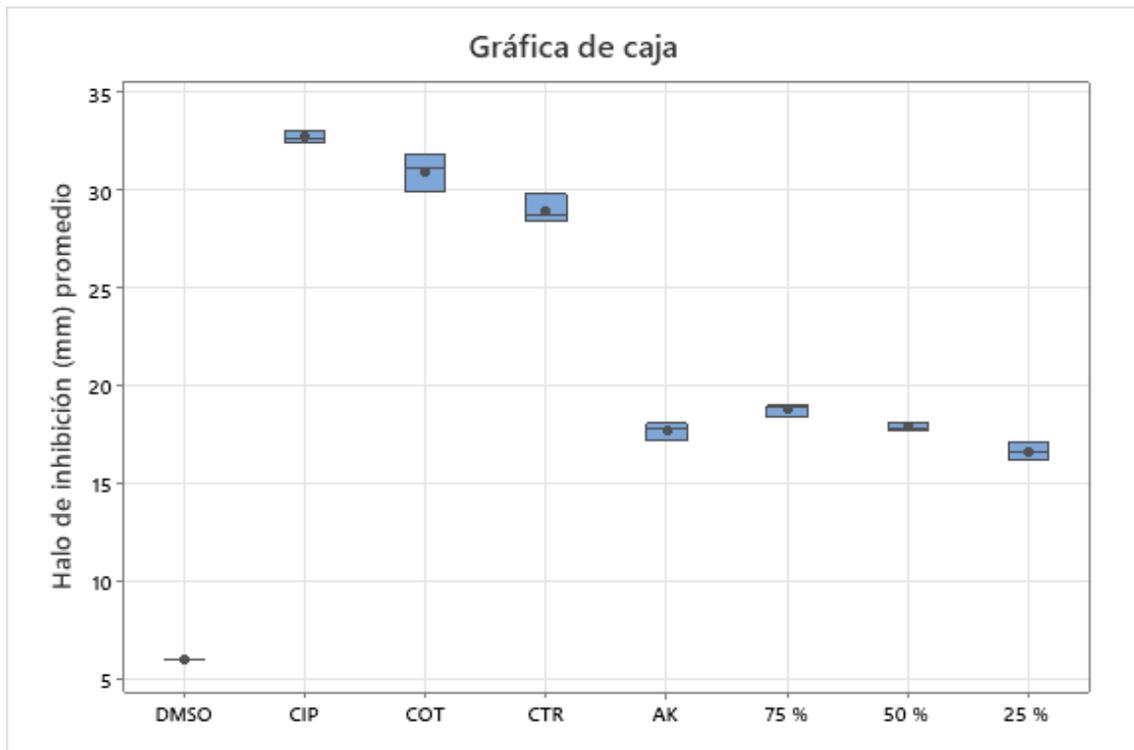


Figura 1. Diagrama de cajas de los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25%, 50%, 75%, antibióticos ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT), ceftriaxona (CTR), amikacina (AK) y blanco (DMSO).

Fuente: Propia

En la Figura 1 se presenta el diagrama de cajas de los halos de inhibición obtenidos en la Tabla 2. Se observa que los extractos de Muña presentan efecto antibacteriano frente a *E. coli* semejante a la amikacina (AK). En cambio, presentan halos de inhibición menores a ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT) y ceftriaxona (CTR).

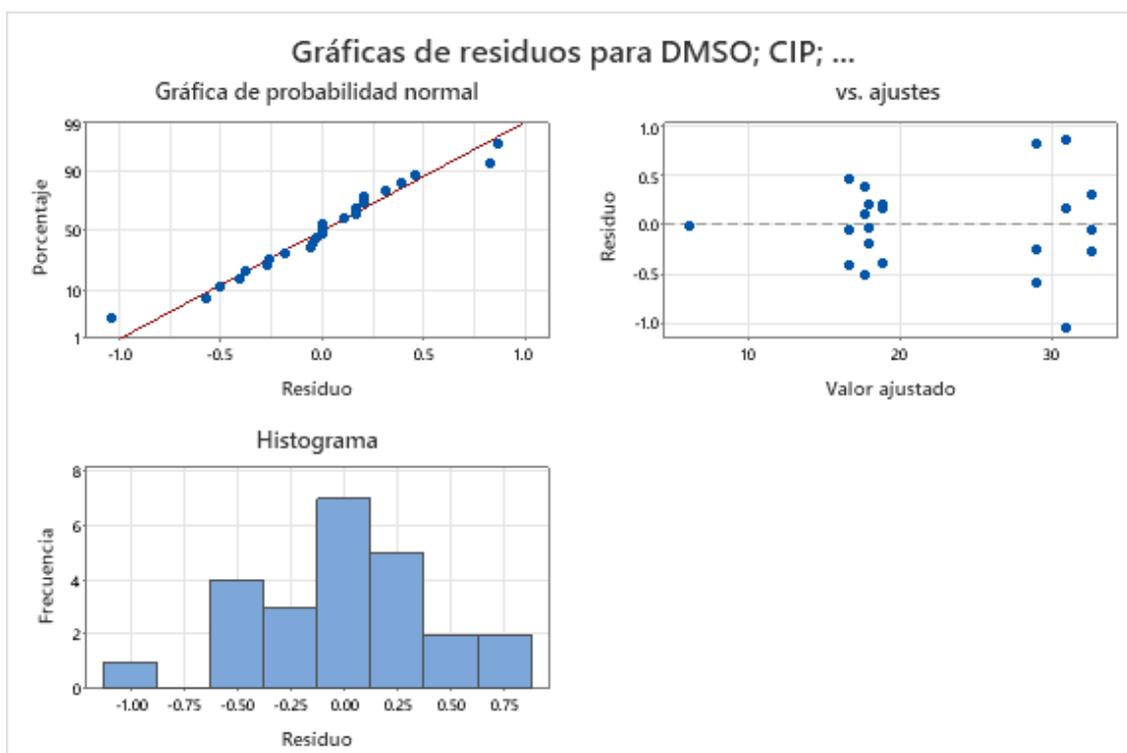


Figura 2. Pruebas de normalidad de la actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*)

Fuente: Propia

La Figura 2 muestra que los datos presentan una distribución normal por lo que se realizó una prueba estadística paramétrica para comparación de grupos.

Tabla 4. Análisis de varianza para comparación de halos de inhibición

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	<i>p</i>	Valor crítico para F
Entre grupos	1712.55	7	244.65	926.70	1.19×10^{-19}	2.66
Dentro de los grupos	4.22	16	0.26			
Total	1716.77	23				

El análisis de varianza de los datos de la Tabla 2 se presenta en la Tabla 3 donde la probabilidad resulto ser menor a 0.05 ($p < 0.05$) lo cual indica que al menos uno

de los tratamientos presentaría diferencia en el efecto antibacteriano frena a *E. coli* al 95 % de confianza.

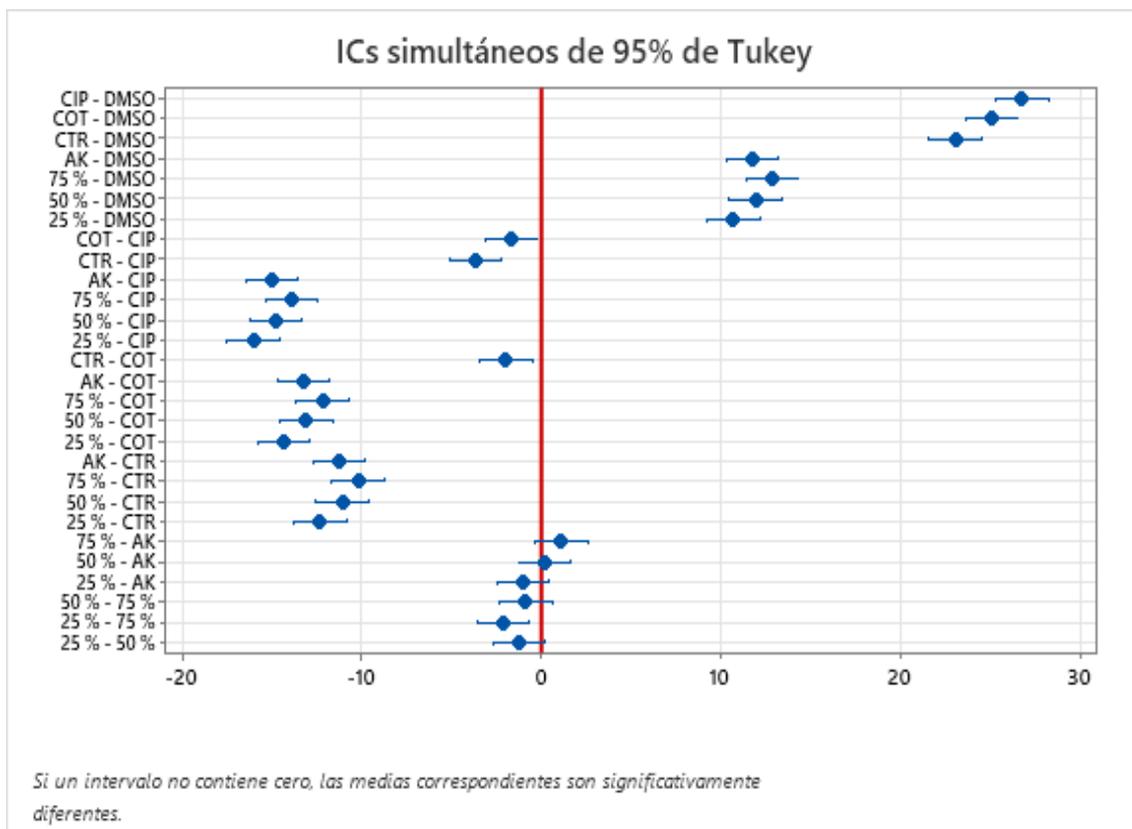


Figura 3. Gráfico de comparación múltiple de Tukey que compara los halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25 %, 50%, 75 %, antibióticos ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT), ceftriaxona (CTR), amikacina (AK) y blanco (DMSO).

Finalmente, para establecer la similitud y diferencia de los grupos se procedió a realizar un análisis confirmatorio posterior al ANOVA que fue el test de Tukey. El resultado del test de Tukey se presenta en la Figura 3 donde los datos que caen en la línea roja indican que no existe diferencia significativa. Entonces, se podría decir que los extractos de muña 25%, 50%, 75% no difieren significativamente del efecto antibacteriano de la amikacina (AK), sin embargo, si existe diferencia significativa entre los extractos y el efecto antibacteriano obtenido por ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT) y ceftriaxona (CTR), siendo estos antibióticos los que generan halos de inhibición significativamente superiores a los extractos al 95 % de confianza.

III.3 Contrastación de Hipótesis:

3.3.1 Contrastación de la hipótesis general:

Ho: El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25%, 50% y 75% no presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ha: El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25%, 50% y 75% presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tal como se evidencia en la tabla 3, donde se considera la media de desviación estándar, el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 75%, 50 % y 25 % presentan halos de inhibición de 18.81 ± 0.33 mm, 17.92 ± 0.20 mm y 16.68 ± 0.44 mm, respectivamente, frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, por lo cual se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se acepta la Hipótesis alterna (Ha).

3.3.1 Contrastación de hipótesis específicas:

- Hipótesis específica 1

Ho: El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) no posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

Ha: El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

Tal como se evidencia en la tabla 2, los diferentes ensayos empleados para identificar los metabolitos secundarios, demostraron la presencia de fenoles (+++); taninos y flavonoides (++) y alcaloides(+), por lo cual se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se acepta la Hipótesis alterna (Ha).

- Hipótesis específica 2

Ho: El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) no posee actividad antibacteriana a mayor concentración frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Ho: El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) posee actividad antibacteriana a mayor concentración frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.

Tal como se evidencia en la tabla 3, el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 75%, 50 % y 25 % presentan halos de inhibición de 18.81 ± 0.33 mm, 17.92 ± 0.20 mm y 16.68 ± 0.44 mm respectivamente, evidenciándose que a mayor concentración existe mayor actividad antibacteriana frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, por lo cual se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se acepta la Hipótesis alterna (Ha).

- Hipótesis específica 3

Ho: La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones no presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico ciprofloxacino.

Ha: La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico ciprofloxacino.

Tal como se evidencia en la figura 3, donde se considera el análisis confirmatorio de Tukey evidencia que el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 75%, 50% y 25% difieren significativamente con los resultados obtenidos por ciprofloxacino, ya que, el antibiótico presenta halos de inhibición significativamente superiores a los extractos al 95% de confianza. Por lo cual se rechaza la hipótesis alterna (Ha) y se acepta la Hipótesis nula (Ho).

- Hipótesis específica 4

Ho: La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones no presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico Sulfametoxazol + trimetoprima.

Ha: La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico Sulfametoxazol + trimetoprima.

Tal como se evidencia en la figura 3, donde se considera el análisis confirmatorio de Tukey evidencia que el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 75%, 50% y 25% difieren significativamente con los resultados obtenidos por Sulfametoxazol + trimetoprima, ya que, el antibiótico presenta halos de inhibición significativamente superiores a los extractos al 95% de confianza. Por lo cual se rechaza la hipótesis alterna (Ha) y se acepta la Hipótesis nula (Ho).

- Hipótesis específica 5

Ho: La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones no presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico ceftriaxona.

Ha: La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico ceftriaxona.

Tal como se evidencia en la figura 3, donde se considera el análisis confirmatorio de Tukey evidencia que el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 75%, 50% y 25% difieren significativamente con los

resultados obtenidos por ceftriaxona, ya que, el antibiótico presenta halos de inhibición significativamente superiores a los extractos al 95% de confianza. Por lo cual se rechaza la hipótesis alterna (Ha) y se acepta la Hipótesis nula (Ho).

- Hipótesis específica 6

Ho: La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones no presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico amikacina.

Ha: La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con el antibiótico amikacina.

Tal como se evidencia en la figura 3, donde se considera el análisis confirmatorio de Tukey muestra que el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 75%, 50% y 25% no existe diferencia significativa con los resultados obtenidos por amikacina, ya que, el antibiótico presenta halos de inhibición similares a los extractos al 95% de confianza. Por lo cual se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se acepta la Hipótesis alterna (Ha).

IV. DISCUSIÓN

IV.1 Discusión de resultados

En el Mundo, son frecuentes los problemas de salud ocasionado por infecciones bacterianas, siendo considerados uno de los principales agentes que conllevan al deceso del paciente, debido a su acción acelerada en desarrollar mecanismos de evasión ante los antibióticos, conocido comúnmente como resistencia bacteriana, esta situación se ve agravada por diversos factores tales como: la automedicación, el uso prologando de antibióticos o la falta de investigaciones relacionadas a encontrar principios activos provenientes de recursos vegetales que permitan la elaboración de nuevos productos farmacéuticos, siendo esta última una de las maneras de aportar a la ciencia y dar a conocer alternativas naturales en beneficio de la población.

Por lo mencionado líneas arriba, se plantea como objetivo general evaluar la actividad antibacteriana el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25%, 50% y 75%, frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, obteniéndose como resultado que la *Minthostachys mollis*, en sus tres concentraciones, muestra halos de inhibición de 16.68 ± 0.44 mm, 17.92 ± 0.20 mm y 18.81 ± 0.33 mm respectivamente, evidenciándose actividad antibacteriana. Dichos valores fueron corroborados por el estudio de Cecchinib M., *et al* (2021) quienes buscaron obtener una nanoemulsión (NE) basada en AE de *Minthostachys verticillata* y evaluar su actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, obteniendo como resultado que, la incubación de *S. aureus* con NE presenta una inhibición del crecimiento bacteriano de 58,87% $0,99$ ($p < 0,05$) demostrando actividad antibacteriana frente a la cepa *Staphylococcus aureus*²⁰. También con el estudio de Aparicio M. (2022) quien se enfocó en “evaluar la susceptibilidad de 34 cepas bacterianas de *Aeromonas spp.*, frente a aceites esenciales de muña cultivada en Cajamarca”, demostrando que la Muña al 15%, presenta halos de inhibición de 16.466 ± 0.840 mm evidenciando fuerte actividad antibacteriana frente a las cepas de *Aeromonas spp.*²³. Además, el estudio de Sánchez M., *et al.* (2021) determino el “efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Griseb) L. frente a

Streptococcus mutans and *Lactobacillus acidophilus*”, demostrando que el aceite de Muña inhibe el crecimiento de ambas bacterias presentando halos de inhibición de 19mm y 18mm respectivamente.²⁴. Finalmente, hay similitud con el trabajo de Barón Y., *et al* (2021) quienes buscaron “demostrar la eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*), recolectada en Cajamarca, sobre cepas de *Staphylococcus aureus*”, obteniendo que el aceite de Muña tuvo los siguientes halos de inhibición: al 50% (6.02 mm), al 75% (11,57 mm) y al 100% (14.20 mm), evidenciándose eficacia²⁵. Cabe mencionar que los resultados obtenidos en los diversos estudios respaldan la actividad antibacteriana de *Minthostachys mollis*, sin embargo, muchos de ellos fueron realizados en bacterias diferentes al presente trabajo, lo cual determina que el recurso vegetal en estudio presenta una fuerte acción bacteriostática en diversas cepas.

Asimismo, se demuestra que el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) presenta metabolitos secundarios, evidenciándose una notable presencia de fenoles; moderada presencia de taninos y flavonoides, y poca presencia de alcaloides. Dichos valores son corroborados por el estudio de Hernández A., *et al.* (2021) quienes buscaron conocer los metabolitos secundarios presentes en las especies Lamiaceae en México, obteniendo como resultado que los constituyentes bioactivos de estos géneros fueron principalmente terpenos y compuestos fenólicos como los flavonoides ²¹. De igual modo con el estudio de Faraone I., *et al* (2020) quienes se plantearon “determinar los metabolitos del Acetato de etilo de la Muña” obteniendo como resultado que el análisis de cromatografía líquida mostró más de 30 compuestos polifenólicos, incluidos triterpenos²². A diferencia del estudio de Aparicio M. (2022) quien busca “evaluar la susceptibilidad de 34 cepas bacterianas de *Aeromonas spp.*, frente a aceites esenciales de muña cultivada en Cajamarca”. mostrando que el metabolito mayoritario es el monoterpeno, cuyos principales constituyentes son Isomentona, Pulegona y Acetato de carvacrol²³, y con el estudio de Sánchez M., *et al.* (2021) quienes demuestran que el aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Griseb) L. tiene efecto antibacteriano frente a *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*, atribuyéndole dicha propiedad a la presencia mayoritaria de terpenos²⁴. La notable diferencia en los

resultados obtenidos posiblemente se deba a que ambos autores trabajaron con aceites esenciales, además, los recursos vegetales en estudio provienen de diversos lugares, lo cual es un factor determinante, debido a que, tanto el suelo y el clima donde son cultivados influyen en sus componente y propiedades.

Finalmente se evalúa la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diversas concentraciones, comparándolas con diversos antibióticos, obteniendo que no hay diferencia significativa con la amikacina, sin embargo, si la hay con la ciprofloxacino, Sulfametoxazol + trimetoprima y ceftriaxona, ya que, estos antibióticos generaron halos de inhibición significativamente superiores a los extractos. A diferencia del estudio de Aigaje A. (2016) quien determina la “efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (tipo) frente a porphyromonas gingivalis”, sin embargo, en comparación con los valores obtenido con el antibiótico ampicilina se evidencio menor sensibilidad⁴¹. Estos resultados posiblemente se deban a que, al ser comparados con un antibiótico diseñados para eliminar las bacterias patógenas, mientras que un recurso vegetal está en inicios de investigación, existiendo aun una variedad de información por validar.

IV.2 Conclusiones

- El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) al 25%, 50% y 75%, presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) fueron fenoles, taninos, flavonoides y alcaloides, siendo los compuestos químicos quienes le proveen la actividad antibacteriana.

- El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) a una concentración del 75% presenta mayor actividad antibacteriana frente a la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922, ya que, obtuvo un promedio de halo de inhibición de 18.81mm.
- La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones, presenta diferencia significativa en comparación con el antibiótico ciprofloxacino, ya que, el antibiótico presenta halos de inhibición significativamente superiores a los extractos.
- La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones, presenta diferencia significativa en comparación con el antibiótico Sulfametoxazol + trimetoprima, ya que, el antibiótico presenta halos de inhibición significativamente superiores a los extractos.
- La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones, presenta diferencia significativa en comparación con el antibiótico ceftriaxona, ya que, el antibiótico presenta halos de inhibición significativamente superiores a los extractos.
- La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) en sus diferentes concentraciones, no presenta diferencia significativa en comparación con el antibiótico amikacina.

IV.3 Recomendaciones

- Se recomienda fomentar y continuar realizando investigaciones relacionadas a la propiedad antibacteriana de las hojas de Muña (*Minthostachys mollis*) frente a diversas cepas bacterianas, ya que es un valioso aporte a la ciencia.
- Se recomienda realizar investigaciones comparativas sobre la actividad antibacteriana del recurso vegetal de Muña (*Minthostachys mollis*) que procedan de diferentes departamentos del Perú con la finalidad de determinar si existe variación respecto a sus principios activos.
- Se recomienda realizar investigaciones sobre los componentes fitoquímicos de la Muña (*Minthostachys mollis*), de esta forma se podría identificar de forma independiente su actividad antibacteriana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fernández S., Macía J., Bu J., Baca J., Chávez V. y Montoya H. Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el Consumidor. Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar. Universidad Nacional de Agricultura, Catacamas, Olancho. 2021 <https://ciencialatina.org/index.php/cienciala/article/view/433>
2. Organización Mundial de la Salud. Las Normas Alimentarias salvan vidas. Guía para el Día Mundial de la Inocuidad de los Alimentos 2023 <https://www.fao.org/3/cc3926es/cc3926es.pdf>
3. Organización Panamericana de la Salud. Enfermedades Transmitidas por los Alimentos ETA. <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/abece-eta-final.pdf>
4. Municipalidad de Ramallo. Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAs) Dirección de Bromatología. Uruguay 2022. https://ramallo.gob.ar/sites/default/files/descargas/modulo_nde4.pdf
5. Malbrán C. Estrategias para la identificación de E. coli. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Organización Panamericana de la Salud. Unión Europea. 2022 https://rr-americas.woah.org/wp-content/uploads/2022/12/sp_identificacion_22-6-2022.pdf
6. Bastidas C. Resistencia a la colistina de las bacterias Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae en humanos y animales de granja en Ecuador. Revista Panamericana de Salud Pública, Ecuador 2021. <https://www.paho.org/journal/es/articulos/resistencia-colistina-bacterias-escherichia-coli-klebsiella-pneumoniae-humanos-animales>
7. Gómez-Duarte O. Enfermedad diarreica aguda por Escherichia coli enteropatógenas en Colombia. Facultad de Medicina de la Universidad de Vanderbilt. Revista Chilena Infectología 2014. <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n5/art10.pdf>

8. Correa M. y De la Cadena E. Resistencia bacteriana a los antibióticos betalactámicos. Revista Scielo, Santiago de Cali 2021
<https://books.scielo.org/id/t755k/pdf/correa-9786287501652-02.pdf>
9. Organización Mundial de la Salud. Resistencia a los antibióticos. Datos y cifras, 2020 <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
10. Quinto W. y Alvarado J. La resistencia antimicrobiana en Perú: un problema de salud pública. Universidad Nacional Federico Villarreal. publicado en la Revista de Investigación científica y Tecnológica Alpha Cetauri. Perú 2021.
<https://journalalphacentauri.com/index.php/revista/article/view/38>
11. Calderón G. y Aguilar L. Resistencia antimicrobiana: microorganismos más resistentes y antibióticos con menor actividad. Revista médica de Costa Rica y Centro América. 2016.
<https://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/621/art03.pdf>
12. Bisso-Andrade A. Resistencia a los antimicrobianos. Publicado en la revista Asociación Peruana de Medicina Interna. Perú 2018
https://www.medicinainterna.net.pe/sites/default/files/revista_vol_23_2/S_PMI%202018-2%20%20Resistencia%20a%20los%20antimicrobianos.pdf
13. Carrera X., Salcedo A., Millones B., Paredes V., et al. Patrones de resistencia antimicrobiana de la familia enterobacteriaceae aisladas de infecciones del tracto urinario de una región alto-andina peruana. Rev. Cuerpo Med. HNAAA. Perú 2021
<https://cmhnaaa.org.pe/ojs/index.php/rcmhnaaa/article/view/1255>
14. Mayta M. La resistencia bacteriana en Hospitales de Perú, 2021. Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Salud Pública y Laboratorio Referencial Nacional de Infecciones Intrahospitalarias. Lima Perú 2021.
<http://www.dge.gob.pe/portal/docs/tools/teleconferencia/2021/SE362021/04.pdf>
15. Duran R. Propuesta de una guía de prácticas de higiene para garantizar la inocuidad de alimentos expendidos en la vía pública. Universidad Cayetano Heredia. Perú 2022

- https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/11259/Propuesta_DuranOchante_Reina.pdf?sequence=1&isAllowed=y
16. Hospital Regional de Huacho. Boletín Epidemiológico S.E.07. Unidad de Epidemiología y Salud Ambiental. Perú 2021
https://www.hdhuacho.gob.pe/WEB/descargas_epi/boletin/2021/BOL_SE_M_07.pdf
 17. Ministerio de Salud. Más de 270 mil episodios de enfermedades diarreicas agudas fueron reportadas a nivel nacional. Perú
<https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/610015-mas-de-270-mil-episodios-de-enfermedades-diarreicas-agudas-fueron-reportadas-a-nivel-nacional>
 18. Gonzáles J., Maguiña C. y Gonzales F. La resistencia a los antibióticos: un problema muy serio. Acta Medica Peruana. 2019.
<http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v36n2/a11v36n2.pdf>
 19. Hilarion G. Susceptibilidad antimicrobiana de cepas Escherichia coli o157:h7 y Escherichia coli enteropatógena aisladas en niños menores de cinco años con diarrea. Universidad Cayetano Heredia. Lima Perú 2020 (Citado el 14 de enero 2021) Disponible en:
<https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/8208>
 20. Cecchinib M., Paolonia C., Campra N., et al. Nanoemulsion of *Minthostachys verticillata* essential oil. In-vitro evaluation of its antibacterial activity. Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina. 2021
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33521347/>
 21. Hernández A., Moreno G., Martínez M., et al. Lamiaceae in Mexican Species, a Great but Scarcely Explored Source of Secondary Metabolites with Potential Pharmacological Effects in Pain Relief. Mexico 2021
 22. Faraone I, Ruso D., Chiumminto L. Phytochemicals of *Minthostachys diffusa* Epling and Their Health-Promoting Bioactivities. University of Basilicata Italy. 2020 <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32024045/>
 23. Aparicio M. Evaluación del efecto antimicrobiano in vitro de los aceites esenciales de muña (*Minthostachys mollis*), molle (*Shinus molle*) y limón sutil (*Citrus aurantifolia*) frente a aislados patogénicos de *Aeromonas spp.* procedentes de truchas arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) cultivadas en el

- Perú. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Perú 2022.
<https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/12961>
24. Sánchez M., Cartagena R, Collantes I. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (Griseb) L. frente a *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*. Revista Cubana de Investigadores Biomédicas. Perú 2021.
<https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/961/1050>
25. Barón Y. y Quezada A. Eficacia antibacteriana del aceite esencial de muña (*Minthostachys mollis*) sobre cepas de *Staphylococcus aureus*. Universidad Roosevelt. Huancayo Perú 2021.
https://repositorio.uroosevelt.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14140/682/TESIS_YOMAR-CHRISTIAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y
26. Hernández et al. Metodología de la investigación. 6ta edición, McGraw-Hill Interamericana. México 2014. <https://www.esup.edu.pe/wp-content/uploads/2020/12/2.%20Hernandez,%20Fernandez%20y%20Bap-tista-Metodolog%C3%ADa%20Investigacion%20Cientifica%206ta%20ed.pdf>
27. Macha F., Taipe D. Efecto del extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum tuberosum* RUÍZ & PAV “Mashua Negra” sobre el crecimiento in vitro de *Escherichia coli*. Universidad Peruana los Andes. Huancayo. Perú. 2021.
<https://repositorio.upla.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12848/2625/TESIS%20FINAL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
28. Morocho G. Susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli* causante de infección de vías urinarias en usuarios del Laboratorio Clínico MEDILAB-Loja. Universidad Nacional de Loja, Ecuador. 2018.
<https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/21394/1/TESIS%20GLENDA%20MOROCHO.pdf>
29. Larry M. Introducción a las bacterias. Manual MSD. Versión para público general 2020.
<https://www.msdmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-introducci%C3%B3n/introducci%C3%B3n-a-las-bacterias>
30. Curinambe W y Zelada I. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Cestrum auriculatum* Heritier “Hierba Santa” en ratas con inducción a inflamación. Universidad Inca Garcilaso

- de la Vega. Perú 2018.
<http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2085/Tesis%20curinambe%20y%20Zelada.pdf?sequence=3>
31. Béjar E. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Jungia paniculata* (dc.) A. Gray “matico serrano” en un modelo de daño gástrico en ratas inducido por etanol. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú 2016.
https://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877335/efecto-antioxidante-del-extracto-hidroalcoholico-de-hojas-de-ju_9HEmKqP.pdf
32. Masschelein L. Los solventes. Publicaciones del centro Nacional de Conservación y Restauración. Chile 2004 <http://www.iber museos.org/wp-content/uploads/2020/05/los-solventes-chi.pdf>
33. Cano C., Bonilla P., Roque M. y Ruiz J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú 2008.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342008000300008
34. Laboratorio Britania S.A. Mueller Hinton Agar. Argentina 2022
https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6151d680d83d2.pdf
35. Laboratorio Clínico y Biomédico. Antibiograma en Mueller-Hinton. Prácticas de Laboratorio: Microbiología. 2018
<http://microbiologiabohio.blogspot.com/2018/01/escala-de-mcfarland.html>
36. Laboratorio clínico y Biomédico. Escala de McFarland. Prácticas de Laboratorio: Microbiología. 2018
<http://microbiologiabohio.blogspot.com/2018/01/escala-de-mcfarland.html>
37. Paucar E. Peltroche N. y Cayo C. Actividad antibacteriana y antifúngica del aceite esencial de *Minthostachys mollis* frente a microorganismos de la cavidad oral. Universidad Nacional Federico Villarreal. Perú. 2021.
<https://repositorio.upsjb.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14308/3072/PI%20-%20FCS%20-%20E-%20C%20c3%a9sar%20F%20c3%a9lix%20Cayo-Rojas.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

38. LibreTexts. Prueba de Susceptibilidad de Disco Kirby-Bauer. Universidad de California Davis. Estados Unidos. 2021
[https://espanol.libretexts.org/Biologia/Microbiolog%C3%ADa/Libro%3A_Microbiolog%C3%ADa_\(Sin_l%C3%ADmites\)/13%3A_Medicamentos_antimicrobianos/13.5%3A_Medicin_de_la_susceptibilidad_a_los_medicamentos/13.5B%3A_Prueba_de_Susceptibilidad_de_Disco_Kirby-Bauer](https://espanol.libretexts.org/Biologia/Microbiolog%C3%ADa/Libro%3A_Microbiolog%C3%ADa_(Sin_l%C3%ADmites)/13%3A_Medicamentos_antimicrobianos/13.5%3A_Medicin_de_la_susceptibilidad_a_los_medicamentos/13.5B%3A_Prueba_de_Susceptibilidad_de_Disco_Kirby-Bauer)
39. Garmendia M. Aplicaciones de Estadística Básica en Microsoft Excel. Universidad Nacional Agraria. Lima Perú 2020.
<https://repositorio.una.edu.ni/4112/1/N005.369G233.pdf>
40. Ministerio de desarrollo agrario y riesgo. Manual de las Buenas Prácticas de Laboratorio. Lima Perú 2021.
<file:///C:/Users/avant/Downloads/MANUAL%20DE%20BUENAS%20PR%C3%81CTICAS%20DE%20LABORATORIO.pdf>
41. Aigaje A. Efectividad antimicrobiana del aceite esencial de *Mintostachys mollis* (tipo) al 25, 50, 100 % frente a *porphyromonas gingivalis* estudio in vitro. Universidad Central del Ecuador. 2016.
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/5704/1/T-UCE-0015-256.pdf>

ANEXOS

ANEXO A: Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Presentará actividad antibacteriana <i>in vitro</i> el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>) al 25%, 50% y 75%, frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?	Evaluar la actividad antibacteriana el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>) al 25%, 50% y 75%, frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.	El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>) al 25%, 50% y 75% presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuáles son los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>) responsables de la actividad antibacteriana?	Determinar los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>).	El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Minthostachys mollis</i>) posee metabolitos secundarios con actividad antibacteriana.

<p>¿A qué concentración el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>) presentará mayor actividad antibacteriana frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922?</p>	<p>Determinar a qué concentración el extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>) presenta mayor actividad antibacteriana frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>) posee actividad antibacteriana a mayor concentración frente a la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.</p>
<p>¿Cuál será la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>) en sus diferentes concentraciones comparados con los antibióticos ciprofloxacino, sulfametoxazol + trimetoprima, ceftriaxona y amikacina?</p>	<p>Evaluar la susceptibilidad antibacteriana de la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>) en sus diferentes concentraciones comparados con los antibióticos ciprofloxacino, sulfametoxazol + trimetoprima, ceftriaxona y amikacina.</p>	<p>La susceptibilidad antibacteriana de la cepa de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 frente al extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>) en sus diferentes concentraciones presenta mayor porcentaje de inhibición en comparación con los antibióticos ciprofloxacino, sulfametoxazol + trimetoprima, ceftriaxona y amikacina.</p>

PROCEDIMIENTO PARA COLECTA DE DATOS USANDO EL CUESTIONARIO

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

ANEXO B: Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
Extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>) (V.I)	Es la obtención de una solución del recurso vegetal en estudio, haciendo uso de la técnica de extracción de un equipo Soxhlet (Figura 1) y se procedió a la extracción con 150 ml etanol. La extracción duró 8 horas que fue donde el cartucho ya no daba coloración al contacto con el etanol de esta manera se obtendrá su concentración.	Es una solución obtenida a base del “extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>)” a diferentes concentraciones.	Concentración del Extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>)	25% 50% 75%	Razón	No aplica	Porcentaje
			Efecto fitoquímico	Presencia de metabolitos secundarios	Nominal	No aplica	Ausente (-) Leve (+) Moderado (++) Abundante (++++)
Actividad antibacteriana frente a la cepa <i>Escherichia coli</i> 25922 (V.D.)	Es un compuesto que se obtiene de forma biosintética o natural, cuya acción es la de matar o inhibir la multiplicación bacteriana.	Es un compuesto que se obtiene del “extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (<i>Mintostachys mollis</i>)” cuya acción es la de matar o inhibir que la cepa <i>Escherichia coli</i> se multiplique, este resultado es medido por difusión agar Kirby-Bauer.	Halo de inhibición del crecimiento bacteriano	Diámetro del Halo de inhibición (mm)	Razón	No aplica	≤ 8mm: Nula 9 - 14 mm: sensibilidad límite 15 – 19 mm: Sensibilidad media ≥ 20mm: Sumamente sensible

ANEXO C: Ficha de Marcha Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*)

METABOLITOS SECUNDARIOS	REACTIVO DE IDENTIFICACIÓN	RESULTADOS	COMENTARIO
Alcaloides			
Flavonoides			
Esteroles			
Saponinas			
Taninos			
Fenoles			

Leyenda:

(-) La coloración o precipitado no se evidencia

(+) La coloración o precipitado se evidencia poco

(++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente

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

ANEXO D: Ficha de Análisis Microbiológico del extracto hidroalcohólico de hojas de Muña (*Minthostachys mollis*)

REPETICIÓN	HALOS DE INHIBICIÓN (mm)							
	Blanco	Antibióticos				Extracto hojas de muña (<i>Minthostachys mollis</i>)		
	DMSO	CIP	COT	CTH	AK	75%	50%	25%
1								
2								
3								
PROMEDIO								
DESVIACIÓN ESTÁNDAR								

Leyenda:

Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz (1983)

(-) Nula: Diámetro (<8mm)

(+) Sensible bajo: Diámetro (8-14mm)

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

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

Controles positivos: ciprofloxacino, sulfametoxazol + trimetoprima, ceftriaxona y amikacina.

ANEXO E: Ficha de Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de hojas

Muña (*Minthostachys mollis*)

SOLVENTE	RESULTADOS
Hexano	
Cloroformo	
Éter de petróleo	
Etanol	
Metano	
Agua destilada	

Leyenda:

(-) No soluble o insoluble

(+) Poco soluble

(++) Mediana o moderadamente soluble

(+++) Completamente soluble

ANEXO F: Evidencias de la obtención del extracto y obtención de la cepa de *E. coli* ATCC 25922



F. 1: Equipo de reflujo
Fuente: propia



F 2. Equipo de reflujo
Fuente: propia



F. 3: Balanza electrónica
Fuente: propia



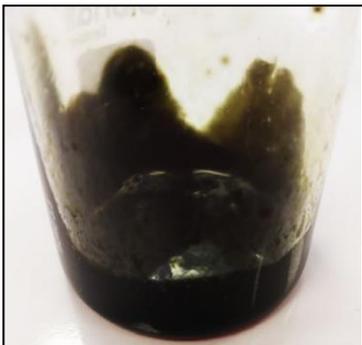
F 4. Balanza electrónica
Fuente: propia



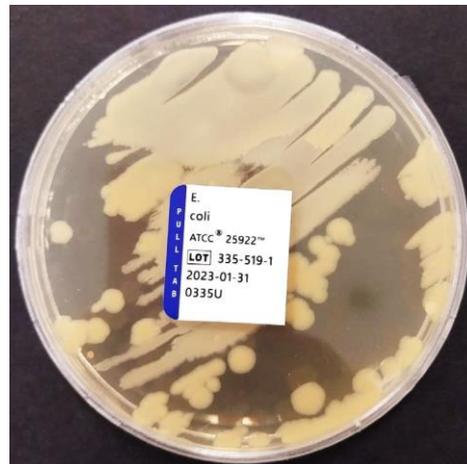
F 5: Extracción por Soxhlet
Fuente: propia



F 6: Concentración del extracto
Fuente: propia

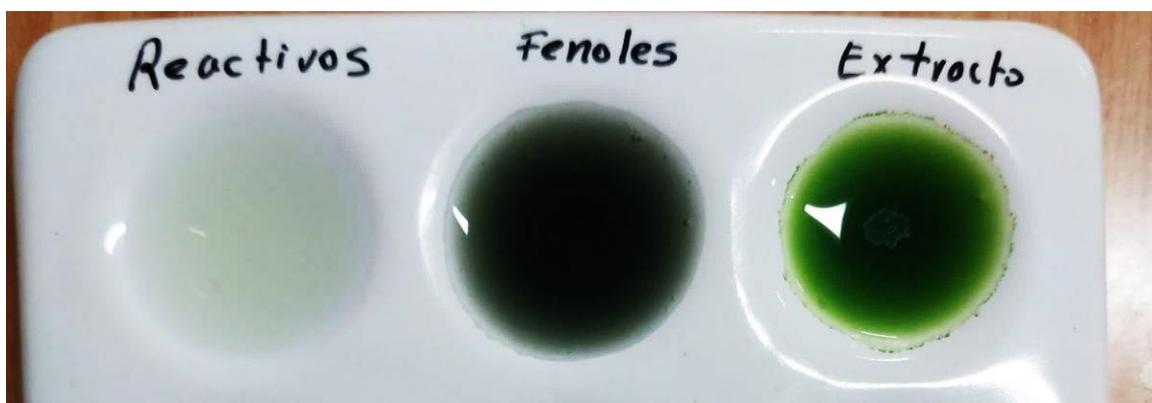


F 7: Extracto etanólico
Fuente: propia



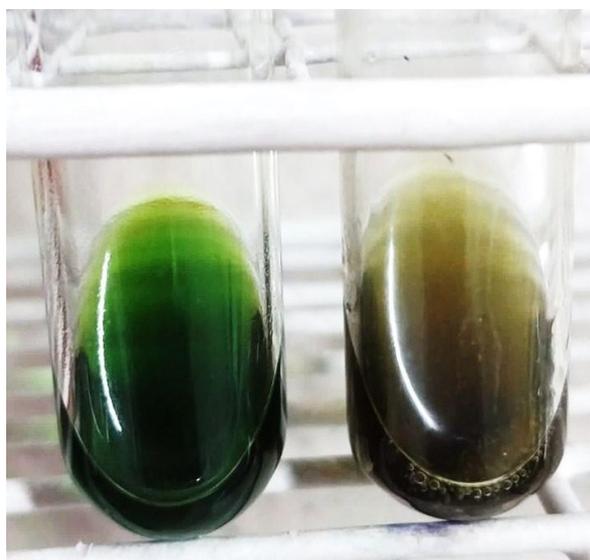
F 8: Cepa de *E. coli* ATCC 25922
Fuente: propia

ANEXO G: Evidencias de la identificación de metabolitos secundarios



G 1. Ensayo de identificación de fenoles

En la Figura G1 se observan los resultados de la identificación de fenoles donde se utilizó el reactivo de Folin y carbonato de sodio, se observa que en el pocillo del medio el extracto al contacto con los reactivos da un color azul intenso lo cual indica la presencia de fenoles en el extracto de muña.



G 2. Ensayo de identificación de flavonoides

En la Figura G2 se observa el resultado del ensayo de identificación de flavonoides donde se observa que al colocar el magnesio con HCl se presenta formación de burbujas y dio un cambio de color del extracto de verde (izquierda) a café rojizo (derecha) esto indica la presencia de flavonoides en el extracto de muña.



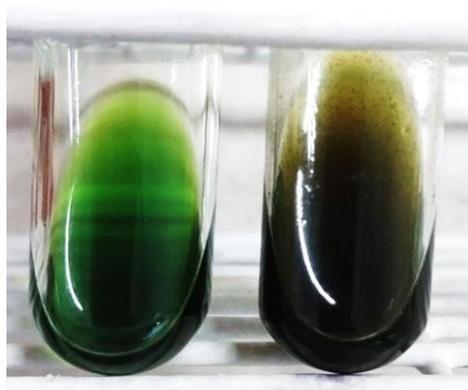
G 3. Ensayo de identificación de alcaloides

En la Figura G3 se observa el resultado del ensayo de identificación de alcaloides donde se observa que al colocar el reactivo de Dragendorff (derecho) se presenta formación de precipitado lo que indica la presencia de alcaloides.



G 4. Ensayo de identificación de esteroides

En la Figura G4 se observa el resultado del ensayo de identificación de esteroides donde se observa que al colocar los reactivos de la prueba de Libermann- Burchard y se observó cambio significativo en la coloración lo cual indica ausencia de esteroides.



G5. Ensayo de identificación de taninos

En la Figura G5 se observa el resultado del ensayo de identificación de taninos donde se observa que al añadir el FeCl_3 al 5 % se observó cambio significativo en la coloración y formación de precipitado lo cual indica presencia de taninos.



G6. Ensayo de identificación de saponinas

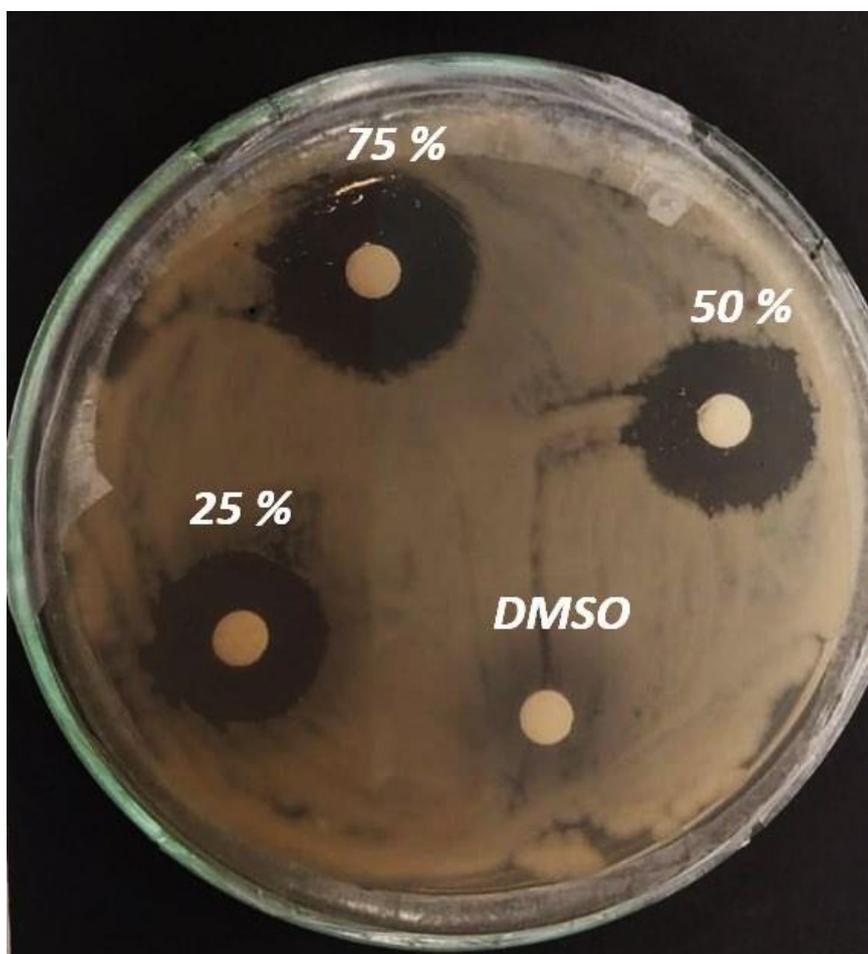
En la Figura G6 se observa el resultado del ensayo de identificación de saponinas donde se observa que al agitar el extracto no se evidencia formación de espuma.



G7. Ensayo de identificación de antocianinas

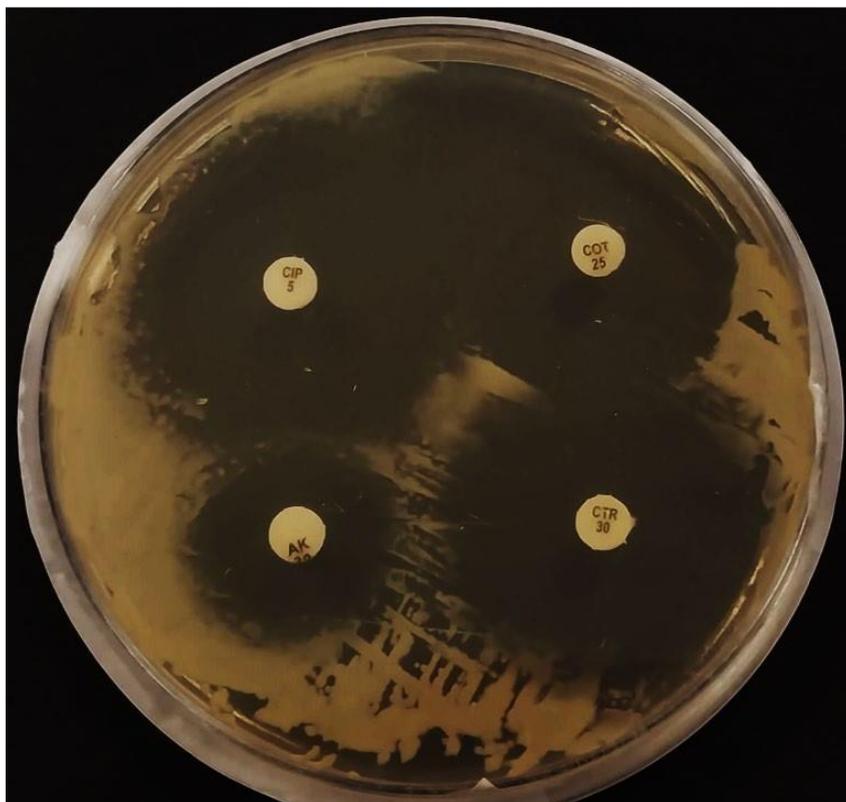
En la Figura G7 se observa el resultado del ensayo de identificación de antocianinas que al agregar el hidróxido de sodio al 10 % no se presentó cambio alguno en la coloración.

ANEXO H: Evidencias de los resultados de los halos de inhibición



H 1. Halos de inhibición correspondiente a extractos de muña de 25 %, 50 % y 75 % frente a *E. coli*.

En la Figura H1 se presentan los resultados del ensayo de sensibilidad antibacteriana del extracto de muña a concentraciones de 25 %, 50 % y 75 % frente a *E. coli* donde se observan halos definidos. Se observa que el DMSO no presentó halo de inhibición al carecer de efecto antibacteriano frente a esta cepa.



H2. Halos de inhibición correspondiente al antibiograma con los antibióticos ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT), ceftriaxona (CTR) y amikacina (AK)

En la Figura H2 se presentan los resultados del ensayo de sensibilidad antibacteriana los antibióticos ciprofloxacino (CIP), Sulfametoxazol + trimetoprima (COT), ceftriaxona (CTR) y amikacina (AK) frente a *E. coli* donde se observan halos definidos.

ANEXO I: Constancia Taxonómica



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



CONSTANCIA N° 0013-2023-HUSA

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

HACE CONSTAR:

Que la muestra biológica presentada por los Bachilleres Reyna Kelly Peralta Rodríguez y Giancarlo Frank Cama Arias de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad María Auxiliadora, vienen realizando su proyecto de investigación "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE MUÑA (*Minthostachys mollis* (Benth.) Griseb.) SOBRE LA CEPA DE *Escherichia coli* ATCC25922". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el Herbarium Arequipense (HUSA) y corresponde a la siguiente especie.

Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Genero	<i>Minthostachys</i>
Especie	<i>Minthostachys mollis</i>

Se le expide la presente a solicitud del interesado

Arequipa, 3 de julio del 2023


Mg. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR

Herbarium Arequipense (HUSA)

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

ANEXO J: Constancia de obtención del extracto, identificación de metabolitos y análisis microbiológico

CONSTANCIA

A QUIEN CORRESPONDA

Quien suscribe Elvis Gilmar Gonzales Condori, identificado con DNI 46441764 en mi calidad de Docente Investigador a Tiempo Completo por la Universidad Tecnológica del Perú y director del Grupo de Investigación en Biotecnología y Ciencia de los Alimentos (GIBYCA) de la misma institución **HAGO CONSTAR QUE:**

Los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica REYNA KELLY PERALTA RODRIGUEZ (DNI: 72550330) y GIANCARLO FRANK CAMA ARIAS (DNI: 46932999) realizaron los experimentos correspondientes a la obtención de extractos etanólicos de hojas de muña, identificación de metabolitos secundarios y determinación del efecto antibacteriano correspondientes a su proyecto de investigación titulado "ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS DE MUÑA (*Minthostachys mollis*) SOBRE LA CEPA DE *Escherichia coli* ATCC 25922" los cuales fueron llevados a cabo en el mes de setiembre del 2023.

Durante la ejecución de los experimentos los estudiantes mostraron puntualidad y trabajo en equipo.

Esta constancia se expide a petición de los interesados, en Arequipa a los 26 días de octubre del 2023.

Adjunto mi correo electrónico personal e institucional para fines que vea por conveniente



Elvis Gilmar Gonzales Condori
Docente investigador
Universidad Tecnológica del Perú
Correo 1: C18099@utp.edu.pe
Correo 2: elvgonzalesc@gmail.com
Código RENACYT: P0020135
[Link CTI Vitae](#)

ANEXO K: Certificado de *Escherichia coli* ATCC 25922



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-511** Reference Number: ATCC® 25922™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2022/4/30 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2020/5/18
---	--

Performance	
Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough	Medium: SSAP
Microscopic Features: Gram negative straight rod	Method: Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Komas): negative Beta-glucuronidase (<i>E. coli</i> Broth w/MUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 15 - 20 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 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 Vittek®: Although the Vittek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(1) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. It is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.



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