



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

**ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA *in vitro* DEL ACEITE
ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Eugenia stipitata* McVaugh
(arazá) FRENTE A *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*
y *Salmonella enterica* sv Enteritidis.**

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

AUTORES:

**Bach. TENORIO HUAMANI, SONIA GLADYS
Bach. MUÑOZ CORDERO, CAROLINA VANESA**

ASESOR:

DR. SAMANIEGO JOAQUIN, JHONNEL WILLIAMS

LIMA – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A nuestros padres, por su constante motivación para cumplir nuestras metas, a nuestros profesores por su incondicional apoyo.

INDICE GENERAL

Dedicatoria.....	i
Índice general.....	ii
Índice de tablas.....	iii
Índice de figuras.....	iv
Índice de anexos.....	v
Resumen.....	vi
Abstract.....	vii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	5
2.1 Enfoque y diseño	5
2.2 Población, muestra y muestreo.....	5
2.3 Variables de investigación.....	6
2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos.....	6
2.5 Proceso de recolección de datos.....	6
2.5.1 Autorización y coordinaciones previas para recolección de datos.....	6
2.5.2 Aplicación de instrumentos de recolección de datos.....	7
2.6 Método de análisis estadístico.....	7
III. RESULTADOS.....	8
3.1 Resultados de la investigación.....	8
3.2 Tamizaje fitoquímico.....	8
3.3 Miscibilidad.....	9
3.4 Evaluación microbiológica.....	10

IV. DISCUSIÓN.....	14
4.1 Discusión.....	14
4.2 Conclusiones.....	15
4.3 Recomendaciones.....	16
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17

INDICE DE TABLA

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico de las hojas de <i>Eugenia stipitata</i> McVaugh (arazá).....	8
Tabla 2. Miscibilidad del aceite esencial de las hojas de <i>Eugenia stipitata</i> McVaugh (arazá).....	9
Tabla 3. Actividad antibacteriana del aceite esencial sobre <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	10
Tabla 4. Actividad antibacteriana del aceite esencial sobre <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	11
Tabla 5. Actividad antibacteriana del aceite esencial sobre <i>Salmonella enterica</i> sv Enteritidis ATCC 13076.....	12
Tabla 6. Promedio general de los halos de inhibición del ensayo microbiológico.....	13

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Halos de inhibición de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 después de aplicar aceite esencial a diferentes concentraciones.....	10
Figura 2. Halos de inhibición de cepas de <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 después de aplicar aceite esencial a diferentes concentraciones.....	11
Figura 3. Halos de inhibición de cepas de <i>Salmonella enterica</i> sv Enteritidis ATCC 13076 después de aplicar aceite esencial a diferentes concentraciones.....	12

INDICE ANEXOS

Anexo A. Ficha de recolección de datos: evaluación microbiológica del aceite esencial del <i>Eugenia stipitata</i> McVaugh (arazá).....	22
Anexo B. Operacionalización de variables.....	23
Anexo C. Evidencias del trabajo de campo.....	24

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* sv Enteritidis.

Materiales y métodos: Este trabajo de investigación es de enfoque cuantitativo con diseño experimental, la extracción del aceite esencial fue a partir de las hojas secas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) por arrastre por vapor, la identificación de sus metabolitos secundarios fue a través de diferentes ensayos cualitativos con la marcha o tamizaje fitoquímico y el método Kirby Bauer identificó la sensibilidad del aceite esencial con el tamaño de los halos demostrando la actividad antibacteriana en las diferentes concentraciones de 25%, 50%, 75%, 100% el instrumento utilizado para recolectar estos datos fue la ficha microbiológica.

Resultados: El aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) presentó actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 al 100%, sobre *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076 presentó actividad al 100%, 75% y 50% para *Escherichia coli* ATCC 25922 se evidenció actividad al 100%, 75%, 50% y 25%.

Conclusiones: El aceite esencial de las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) presenta variada actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076 y *Escherichia coli* ATCC 25922, las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) contienen compuestos químicos como triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas y proteínas.

Palabras claves: Arazá, aceite esencial, Kirby Bauer, actividad antibacteriana, destilación por arrastre de vapor de agua.

ABSTRACT

Objective: the study was to evaluate the antibacterial activity *in vitro* of the essential oil of the leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* sv Enteritidis.

Materials and methods: This research work has a quantitative approach with experimental design, the extraction of the essential oil was from the dried leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) by steam drag, the identification of its secondary metabolites was through different qualitative tests with the gait or phytochemical screening and the Kirby Bauer method identified the sensitivity of the essential oil with the size of the halos demonstrating the antibacterial activity in the different concentrations of 25%, 50%, 75%, 100% the instrument used to collecting these data was the microbiological record.

Results: The essential oil of *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) presented antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 only at 100% concentration, on *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076 presented activity at 100%, 75% and 50%, for *Escherichia coli* ATCC 25922 activity was evidenced at 100%, 75%, 50% and 25%.

Conclusions: The essential oil from the leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) presents varied antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076 and *Escherichia coli* ATCC 25922, the leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh (as chemical compounds) contain triterpenes, flavonoids, tannins, saponins and proteins.

Keywords: Araza, essential oil, Kirby Bauer, antibacterial activity, steam distillation.

INTRODUCCIÓN

El uso de sustancias o especies naturales en el tratamiento de diferentes patologías, incluidas las de etiología infecciosa, constituyen hoy en día un gran desafío en la medicina moderna, pues más del 80% de la población mundial hace uso de ésta, principalmente para prevenir o contrarrestar enfermedades de tipo respiratorias, urinarias, digestivas entre otras. Esta tendencia va en aumento debido a que cada día se incrementa el número de personas que recurren a estos tratamientos muchos sin validación científica, y a ello sumamos que la población hace uso indiscriminado de los fármacos sintéticos que ha permitido que los microorganismos desarrollen fármacorresistencia sin medir el riesgo que pueden ocasionar en la salud (1).

El Perú, no es ajeno a esta realidad y tomando en consideración que es uno de los 12 países con mayor biodiversidad en el mundo, y poseedor de más de 30 mil especies botánicas, algunas con propiedades medicinales ya conocidas y otras que no cuentan con el suficiente respaldo científico que les avale para que puedan ser empleadas como tratamientos alternativos o terapéuticos en diversas patologías frecuentes de origen infeccioso que aquejan a la población, como es el caso de la enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). Nuestro país aún mantiene índices de prevalencia; ya que hasta la semana epidemiológica 15-2019, fueron notificados 22 brotes de ETAs en 12 departamentos a nivel nacional; con un total de 729 personas afectadas, 214 fueron hospitalizadas y tres fallecieron como consecuencia de la infección. Los departamentos más afectados Lambayeque (18,2%) y Tumbes (13,6%) de un total de 137 afectados, 87 hospitalizados y una defunción; siendo el mayor agente causal de *Escherichia coli* y *Salmonella sp* (22,7%) (2). Actualmente no existe suficiente evidencia significativa de estudios en aceites esenciales con efecto antibacteriano, antiinflamatorio, antioxidante, entre otros tal es el caso de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá), motivo por el cual es el punto de partida de la presente investigación ya que para poder validar sus funciones medicinales en el tratamiento de diferentes patologías, es necesario obtener información veraz, detallada y científica (3).

Eugenia stipitata McVaugh (arazá) es un árbol de 12-15 m de altura con disperso follaje, de flores y ramas con abundante pubescentia (4). Es originaria de la región amazónica occidental entre los ríos Ucayali y Marañón, existen en estado silvestre en numerosas zonas del departamento de Loreto, donde puede alcanzar hasta 10 metros de altura (4, 5). La composición química de la especie *Eugenia stipitata* McVaugh perteneciente a la familia Myrtaceae es variada, presentando entre sus componentes principales fenoles y compuestos terpénicos (6), contenidos en los aceites esenciales. Estas sustancias se distribuyen en hojas, raíces, semillas, tallo, flores o frutos (7, 8). Para la obtención del aceite se utiliza el método de destilación por arrastre de vapor de agua (9). El efecto antimicrobiano del aceite esencial del recurso en estudio es evaluado en bacterias microorganismos unicelulares, que se reproducen por fisión binaria que carecen de sistema de endomembranas y su movilización depende de estructuras flagelares con filamento único o microfibrillas externas denominadas pili o fimbrias que tiene función en la adhesión (10, 11). Se pueden clasificar según la estructura de su pared celular en bacteria Gram positiva y Gram negativa. Estos microorganismos en general son agentes etiológicos de múltiples patologías en el hombre como las ETAs causadas por la ingestión de agua contaminada con *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, que producen toxiinfecciones e infecciones alimentarias, siendo causa importante de morbilidad y mortalidad en todo el mundo (12, 13).

Aguilar y Ancori (14), concluyen en sus investigaciones realizadas en aceites esenciales de cinco plantas andinas, que solo *Cymbopogon citratus* y *Piper elongatum* presentaron mayor actividad antibacteriana frente a *S. mutans*.

Becerra C. (15), indica en la composición fitoquímica y actividad antiparasitaria del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh la presencia de sesquiterpenos y monoterpenos.

Becker N, Martins L. y col. (16), en sus estudios realizados concluyeron que el aceite esencial de *Eugenia uniflora* L. presentó en mayor porcentaje terpenos, metabolito al que se le atribuye propiedades antimicrobianas.

Nargella S. y col. (17), en su investigación realizada el aceite esencial de *Eugenia klotzschiana* Berg (Myrtaceae) presentó actividad antibacteriana frente a *Streptococcus salivarius* y *Streptococcus mutans*; esto se deba probablemente por la presencia de terpenos.

Nara L. y col. (18), mencionan en la investigación al aceite esencial de las hojas de *Eugenia jambolana* frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Seudomona aeruginosa* que la actividad antibacteriana del aceite fue más efectiva frente a *S. aureus*.

Simonetti E. y col. (19), concluyen que los extractos hexanólico, clorofórmico, acetato de etilo y etanólico de *Eugenia anómala* es un potencial agente promisorio antimicrobiano frente a *Escherichia coli* y *Listeria monocytógenes*.

Renan G. y col. (20), mencionan en los estudios realizados al extracto hidroetanólico de *Eugenia florida*, la presencia de metabolitos importantes como fenoles y terpenos poseedores de propiedades bacteriostáticas; con baja actividad frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Chellan M. y col. (21), indican en la investigación realizada a los componentes químicos y actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *Syzygium lanceolatum* frente *S. aureus*, *S. hominis*, *A. viridans*, *E. coli*, *B. cereus* y *B. licheniformes* escasa actividad antimicrobiana del recurso en comparación con antibióticos como gentamicina y ampicilina.

Flores J. (22), menciona en la determinación de la actividad antibacteriana “*in vitro*” del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) a. gray “arrayan” frente a *Streptococcus mutans* presentó actividad antibacteriana frente al microorganismo estudiado.

El interés por el uso de los recursos vegetales es enorme ya que sus propiedades medicinales hoy en día son de gran importancia para el hombre, no solo por los efectos adversos de los fármacos sintéticos, sino también por el incremento de la resistencia bacteriana y la rápida propagación de las patologías que producen. Es por ello la significancia del presente estudio, ya que se ha verificado científicamente la propiedad antibacteriana de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá), lo que contribuye con conocimiento científico para futuras investigaciones y desarrollo de nuevos

tratamientos alternativos naturales, eficaces, con menos reacciones adversas y de bajo costo, de modo que se beneficie la población, sobre todo los sectores socioeconómicos menos favorecidos; así también da importancia a nuestros recursos naturales, incentivando sobre todo a los que aún no cuentan con información validada.

Desde sus inicios; el hombre, ha tenido una estrecha relación con su medio ambiente; gracias a su curiosidad e instinto de supervivencia fue reconociendo de manera empírica lo que le ofrece la naturaleza para tratar diversas patologías. Hoy en día dicha práctica sigue en vigencia y buscar un enfoque científico con la finalidad de dar a conocer, demostrar y validar esas bondades terapéuticas, donde las especies vegetales son su principal herramienta (23). Es por ello que el presente estudio busca comprobar la actividad antibacteriana de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) a quien se le atribuye algunas propiedades incluyendo la antimicrobiana, ya que lamentablemente no cuenta con la suficiente información que la valide. Su confirmación no solo aporta con conocimiento científico a la sociedad, sino brinda una nueva herramienta fundamental para ser integrada en los sistemas de salud y con ello el desarrollo de nuevos fitofármacos; además de promover su cultivo, incluso con miras a exportación y de este modo contribuir en el desarrollo económico de la población.

El objetivo general de la presente investigación fue evaluar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica* sv *Enteritidis*; como objetivos específicos fueron determinar a partir de qué concentración el aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) presenta actividad antibacteriana frente a cada uno de los microorganismos estudiados e identificar los principales metabolitos presentes en las hojas del recurso en estudio.

Hipótesis general: El aceite esencial de las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* sv *Enteritidis*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y Diseño

Esta investigación es de enfoque cuantitativo porque recolectó y analizó los datos para probar la hipótesis planteada con base en la medición numérica y el análisis estadístico de los resultados (24). En cuanto al diseño de investigación es experimental ya que se manipuló la variable concentración del aceite esencial para demostrar la relación causa efecto.

2.2 Población, Muestra y Muestreo

En la investigación se trabajó con la población de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) procedente del barrio de Belén distrito de Belén perteneciente a la ciudad de Iquitos del Departamento de Loreto; cuyas coordenadas geográficas son Latitud: -3.76167, Longitud: -73.2483 3° 45' 42" Sur, 73° 14' 54" Oeste de la ciudad de Iquitos. La muestra fueron 4 kilos de hojas secas que sirvieron para la obtención de 7 ml de aceite esencial de las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá).

Criterios de inclusión:

Hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) en buenas condiciones, frescas y enteras; provenientes de la ciudad de Iquitos departamento de Loreto.

Criterios de exclusión:

Hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) en malas condiciones, marchitas y rotas; provenientes de otras ciudades que no pertenezcan a la ciudad de Iquitos departamento de Loreto.

2.3 Variables de estudio.

Variable Independiente: Es el Efecto de la concentración del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) teniendo como indicadores las diferentes concentraciones 100%, 75%, 50% y 25%; la manipulación de la muestra es la causa con efecto sobre la otra variable que permitió probar la hipótesis planteada. Variable dependiente: Actividad antibacteriana, siendo el diámetro del halo de inhibición el indicador de la variable; cuyo comportamiento se vio afectado por la concentración del aceite esencial del recurso en estudio.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Las técnicas utilizadas fueron: arrastre de vapor, marcha fitoquímica, prueba de miscibilidad y la técnica microbiológica. La Destilación por arrastre de vapor se utilizó para obtener el aceite esencial (25), la marcha o tamizaje fitoquímico para la identificación de los compuestos químicos presentes en el recurso vegetal (26), la prueba de miscibilidad determinó que solvente se emplearía en la dilución del aceite esencial para obtener las diferentes concentraciones (26, 27) y la técnica microbiológica (método Kirby Bauer) determinó la actividad antibacteriana del aceite en estudio (28). La ficha experimental microbiológica mide la variable principal, describiendo el efecto de las concentraciones de 100%, 75, 50% y 25% realizada las pruebas por triplicado, demostrando la variable dependiente con la actividad de las concentraciones, presenta actividad con un halo de inhibición significativo igual o mayor a 8 mm. (anexo A).

2.5 Proceso de recolección de datos

2.5.1 Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos.

La identificación taxonómica del recurso fue realizado por el Consultor botánico José Ricardo Campos de la Cruz de Plantas del Perú Certificación

Botánica, para la recolección del recurso se coordinó con Lorena Pacaya Monge personal calificado residente del barrio de Belén de la ciudad de Iquitos; se gestionó los permisos para el acceso a los laboratorios fisicoquímicos Rovill Ingenieros Proyectos del Ingeniero Pedro Romero Otiniano para la obtención del aceite esencial y microbiológico BIOEN LAB S.A.C del Microbiólogo Neil Azabache Venegas para el análisis microbiológico de las cepas bacterianas respectivamente.

2.5.2 Aplicación de instrumentos de recolección de datos

Se realizó en el mes de setiembre de este año, con la selección de la especie e identificación taxonómica de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá), se extrajo el aceite esencial el cual fue diluido con dimetilsulfóxido para obtener cuatro concentraciones del mismo, estas fueron embebidas en discos estériles colocados en placas Petri con medios de cultivo Agar Plate Count (APC), inoculadas con *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076 según el método Kirby Bauer, las pruebas se realizaron por triplicado procediéndose a la lectura después de las 24 horas de incubación a 37°C, el diámetro del halo de inhibición fue medido con un calibrador de Vernier (28, 29). Los resultados fueron plasmados en la ficha de datos (anexo A).

2.6 Métodos de análisis estadístico

el análisis de la variable principal se efectuó previo llenado en el programa SPSS test selector in medical; y para determinar la actividad antibacteriana del aceite con la presencia o no de los halos de inhibición se hizo uso de la prueba estadística Kruskal-Wallis.

III. RESULTADOS

3.1 Resultados de la investigación

3.1.1 Tamizaje fitoquímico

Tabla 1. Tamizaje fitoquímico de las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá)

METABOLITO	RESULTADO
Flavonoides (Shinoda)	++
Fenólicos (Cloruro férrico)	+++
Taninos	++
Azúcares reductores (Fehling)	++
Esteroides (Liebermann-Burchard)	+
Triterpenos (Liebermann-Burchard)	+++
Alcaloides (Dragendorff)	-
Cardenólidos (Kedde)	-
Antocianinas	-
Saponinas	++
Proteínas aminoácidos (nihidrina)	++
Reacciones negativas (-)	
Reacciones positivas: (+) baja evidencia, (++) moderada evidencia, (+++) alta evidencia.	

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 1 se observan los metabolitos predominantes como los compuestos fenólicos seguido de los triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas y proteínas.

3.1.2 Miscibilidad

Tabla 2. Miscibilidad del aceite esencial de las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá).

SOLVENTE	RESULTADO
Agua destilada	-
Metanol	++
Etanol 96%	++
Etanol 70%	+
Diclorometano	++
Cloroformo	+
n-hexano	++
Dimetilsulfóxido	+++

Leyenda: Insoluble (-), poco soluble (+), soluble (++), muy soluble (+++).

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 2 se evidencia la mayor homogenización debido a su polaridad con dimetilsulfóxido; siendo elegido por presentar mayor solubilidad y no interferir en los resultados de la investigación como lo harían los alcoholes debido a la acción bacteriostática que poseen.

3.1.3 Evaluación microbiológica

Tabla 3. Actividad antibacteriana del aceite esencial sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

<i>Staphylococcus aureus</i>				
(n)	100%	75%	50%	25%
1	12,0 mm	0,0 mm	0,0 mm	0,0 mm
2	12,0 mm	0,0 mm	0,0 mm	0,0 mm
3	12,0 mm	0,0 mm	0,0 mm	0,0 mm

n: número de repeticiones de la prueba

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 3 se observa que el aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh presentó actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* solo a la concentración del 100% con zona de inhibición de 12 mm.

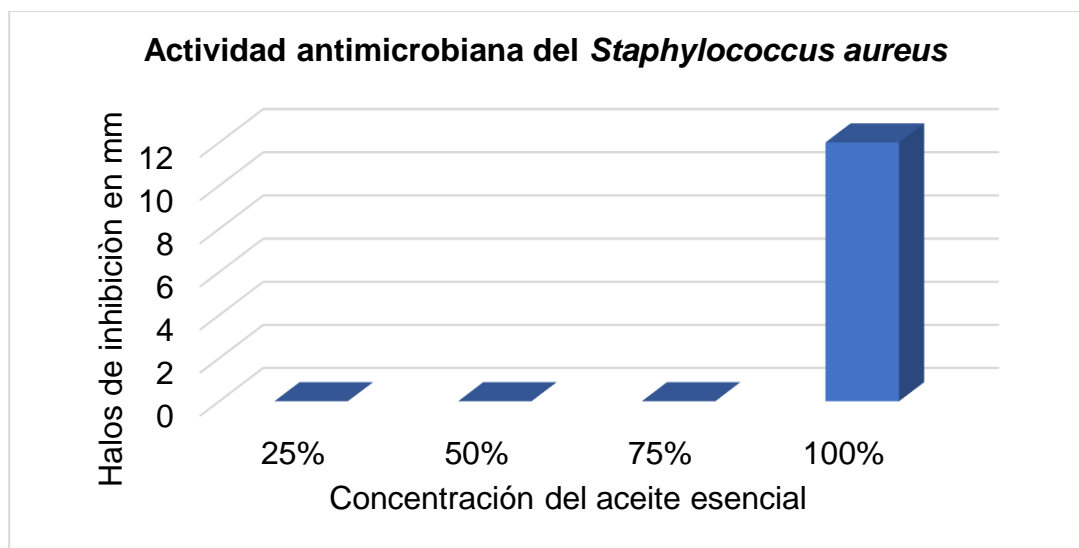


Figura 1. Los halos de inhibición en cepas de *Staphylococcus aureus* después de aplicar aceite esencial a diferentes concentraciones.

En la figura 1 podemos observar actividad antibacteriana del aceite esencial frente a *Staphylococcus aureus*, según el programa SPSS test selector in medical, la prueba estadística Kruskal-Wallis demostró significancia al 100% con un promedio de halo de inhibición de 12 mm.

Tabla 4. Actividad antibacteriana del aceite esencial sobre *Escherichia coli* ATCC 25922

<i>Escherichia coli</i>				
(n)	100%	75%	50%	25%
1	10,0	10,0	8,0	7,0
2	10,0	10,0	8,0	7,0
3	9,0	10,0	8,0	7,0

n: número de repeticiones de la prueba

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 4 se observa la actividad antibacteriana del aceite esencial frente a *Escherichia coli* a concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25% con zonas de inhibición de 9.6 mm, 10 mm, 8 mm y 7 mm respectivamente.

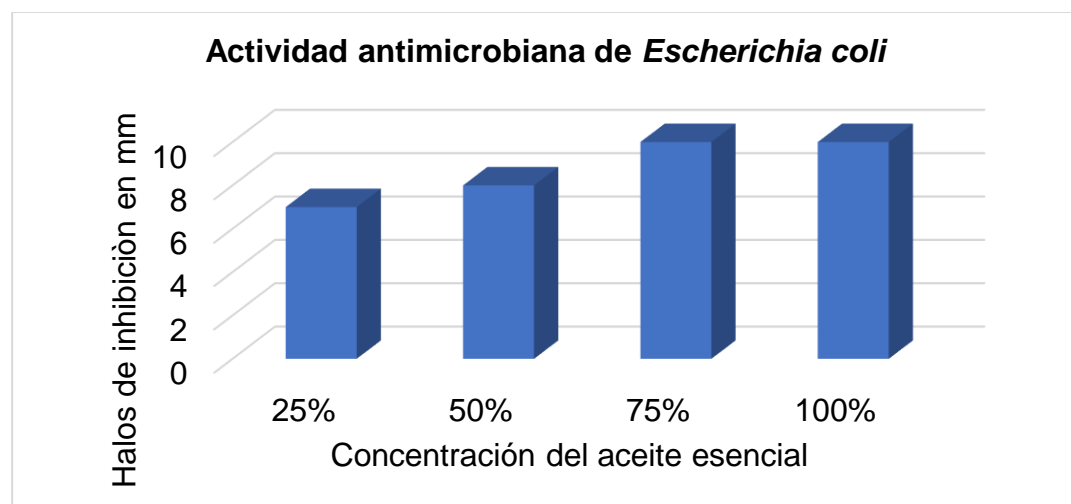


Figura 2. Los halos de inhibición en cepas de *Escherichia coli* después de aplicar aceite esencial a diferentes concentraciones.

En la figura 2 se observa que el aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh presentó actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli*, de acuerdo al programa SPSS test selector in medical, la prueba estadística Kruskal-Wallis demostró significancia al 25%, 50%, 75%, y 100%.

Tabla 5. Actividad antibacteriana del aceite esencial sobre *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076

<i>Salmonella enterica</i>				
(n)	100%	75%	50%	25%
1	9,0 mm	8,0 mm	7,0 mm	0,0 mm
2	9,0 mm	8,0 mm	7,0 mm	0,0 mm
3	9,0 mm	8,0 mm	7,0 mm	0,0 mm

n: número de repeticiones de la prueba

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 5 se observa actividad antibacteriana del aceite frente a *Salmonella enterica* sv *Enteritidis* a concentraciones de 100%, 75% y 50%.

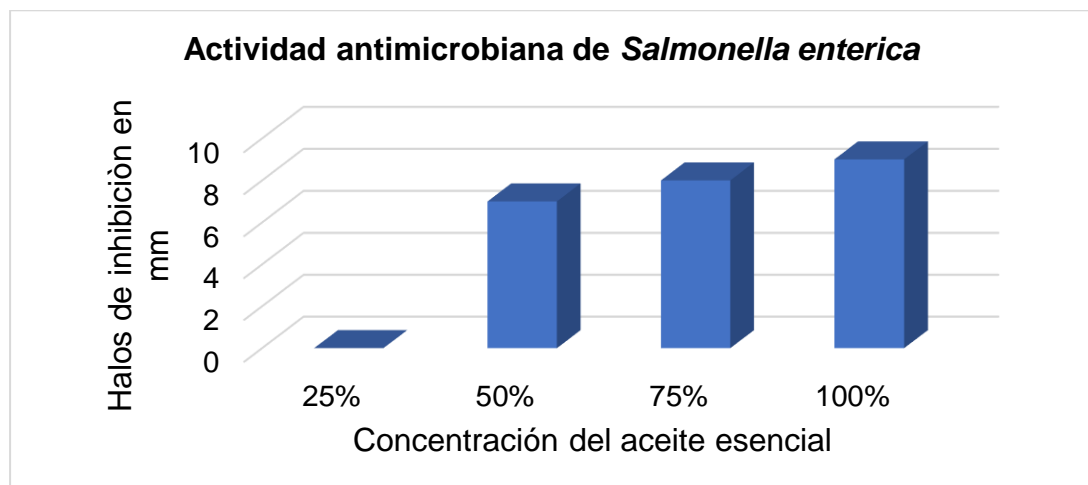


Figura 3. Halos de inhibición en cepas de *Salmonella entérica* después de aplicar aceite esencial a diferentes concentraciones.

En figura 3 se observa que el aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh presentó actividad antibacteriana frente a *Salmonella entérica sv Enteritidis* ATCC 13076, de acuerdo al programa SPSS test selector in medical, la prueba estadística Kruskal-Wallis demostró significancia al 50%, 75% y al 100% con un promedio de halo de inhibición de 7 mm, 8 mm y 9 mm respectivamente.

Tabla 6. Promedio general de los halos de inhibición del ensayo microbiológico

Placa	Aceite esencial 100% (mm)	Aceite esencial al 75% (mm)	Aceite esencial 50% (mm)	Aceite esencial 25% (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	12,0	0,0	0,0	0,0
<i>Escherichia coli</i>	9,6	10,0	8,0	7,0
<i>Salmonella entérica sv Enteritidis</i>	9,0	8,0	7,0	0,0

Fuente: Elaboración Propia.

En la tabla 6 podemos observar el promedio total de los halos de inhibición en milímetros de las pruebas por triplicado del ensayo microbiológico realizadas en las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá).

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión

Eugenia stipitata McVaugh (arazá) es un recurso vegetal que pertenece a la familia Myrtaceae con propiedades químicas que le confieren actividad antibacteriana gracias a los compuestos monoterpénicos que interfieren en la permeabilidad de la membrana celular bacteriana ocasionando la salida de iones y ATP lo que resulta la inhibición de la cadena respiratoria (30, 31) mientras que los sesquiterpenos al inhibir la descarboxilasa de histidina conlleva a lisis celular, éstos componentes además reducirían la producción de toxinas bacterianas (32).

El tamizaje fitoquímico realizado a las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh evidencia la presencia de compuestos fenólicos, terpénicos, flavonoides, taninos y saponinas, lo que concuerda con la investigación realizada por Renan G. y Col. quienes identificaron en sus estudios los mismos componentes químicos a través de pruebas de coloración y precipitación (20).

La evaluación de la actividad antibacteriana, el aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 26923 presenta actividad solo a la mayor concentración cuyo resultado es respaldado por: Chellan M. y col. quienes utilizaron el aceite de *Syzygium lanceolatum* (Lam) a 100 mg/L (100%) y 50 mg/L (50%) presentando actividad antibacteriana frente al microorganismo en estudio (21).

La evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) presenta efecto inhibitorio en las cuatro concentraciones frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 a diferencia de Renan G. y col. quienes trabajaron con extractos hidroetanólico de *Eugenia florida* a concentraciones que oscilaban entre 1000 a 1.95 mg/ml, cuya MIC fue de 1000 µg/ml para *Escherichia coli*; cuyos resultados demuestran que el extracto alcohólico del recurso tiene mejor actividad

antibacteriana que el aceite esencial, debido al efecto antimicrobiano del metanol (20).

En la evaluación de la actividad antibacteriana el aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) presenta efecto inhibitorio frente a *Salmonella enterica* sv Enteritidis ATCC 13076 a las tres mayores concentraciones a diferencia de Becker N, Martins L. y col. quienes determinaron su actividad a través de la concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de *Eugenia uniflora* (L.) frente a *Salmonella thyphimurium* a concentraciones de 25%, 12.5%, 6.25% y 3.125% obteniendo efecto desde la mínima concentración (16).

Por los resultados obtenidos deducimos que las diferencias encontradas con los antecedentes podrían deberse a que utilizaron distintas especies de la misma familia taxonómica del recurso vegetal del estudio, con variaciones en su composición química responsables de la actividad antibacteriana, además influye también el lugar de procedencia del recurso, el método de extracción, periodo de cosecha y recolección entre otros factores.

Este trabajo aporta información nueva que podría ser tomada como base para investigaciones futuras, profundizando el estudio de los componentes químicos responsables de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá).

4.2 Conclusiones

- El aceite esencial de las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) presenta actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella enterica* sv Enteritidis.
- *Staphylococcus aureus* es susceptible al aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) a la concentración del 100%.
- *Escherichia coli* es susceptible al aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) a la concentración del 100%, 75%, 50% y 25%.

- *Salmonella enterica* sv Enteritidis es susceptible al aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) a la concentración del 100%, 75% y 50%.
- Los principales metabolitos presentes en las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) son triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas y proteínas.

4.3 Recomendaciones

- Se recomienda realizar la extracción del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) en hojas frescas para obtener un mayor porcentaje de rendimiento del aceite.
- Se recomienda realizar trabajos de investigación para evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) en otras bacterias relacionadas con las diversas patologías que afectan al ser humano.
- Se recomienda realizar pruebas experimentales *in vivo* para comprobar la eficacia o toxicidad del aceite de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023 SE 15 [en línea] 2013. [Citado: 2020 agosto 16]; 28
Disponible en:
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf;jsessionid=DD40B722F35815530EBB53038102F4F7?sequence=1
2. Ministerio de Salud. Boletín Epidemiológico del Perú [en línea] 2019. [Citado: 2020 agosto 16]; 28
Disponible en:
<https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2019/15.pdf>
3. Chasipanta E. y Chicaiza T. Evaluación de la Actividad Antioxidante de 5 variedades de aceites esenciales Amazónicos (*Ocotea quixos*, *Psidium guajava*, *Eugenia stipitata*, *Piper auritum*, *Piper imperiale*) [Tesis para la obtención del Título de Ingenieras en Biotecnología en Recursos Naturales]. Quito: Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Facultad de Ingeniería Natural; 2016 [Citado: 2020 agosto 17]
Disponible en:
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12141/1/UPSQT09649.pdf>
4. Orwa et al. *Eugenia stipitata* McVaug.[En línea] 2009 [Citada: 2020 agosto 18]; [01-12pp]
Disponible en:
http://apps.worldagroforestry.org/treedb/AFTPDFS/Eugenia_stipitata.PDF
5. Tratado de Cooperación Amazónica. *Eugenia Stipitata* (arazá). [en línea] 1999 [Citado: 2020 agosto 19]
Disponible en:
<http://www.otcaoficial.info/assets/documents/20161219/1ac7c6e1ac4657fcc3da54bb9ac59180.pdf>

6. Medeiros J. Composition of the Bioactive Essential Oils from the Leaves of *Eugenia stipitata* McVaugh ssp. *Sororia* from the Azores. [en línea] 2003 [Citado: 2020 agosto 24]
https://www.researchgate.net/publication/254246065_Composition_of_the_Bioactive_Essential_Oils_from_the_Leaves_of_Eugenia_stipitata_McVaugh_ssp_sororia_from_the_Azores
7. Martínez A. Aceites esenciales [en línea] 2003. Febrero [Citado: 2020 agosto 26]
Disponible en:
http://www.medinformatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/AceitesEsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
8. Butnariu M. Essential Oils from Plants. [en línea] 2018. Diciembre [Citado: 2020 agosto 27]
Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/329869686_Essential_Oils_from_Plants/link/5c20bc4c299bf12be3964f32/download
9. Peredo LH, Palou GE, Lopez MA. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos. Aceites esenciales: métodos de extracción. México. [En línea] 2009 Febrero [Citado: 2020 agosto 27]; [24-32 pp]. Disponible en:
<https://dokumen.tips/documents/metodos-modernos-de-extraccion-de-aceites-esenciales.html>
10. Joklik, Willett, Amos y Wilfert. Zinsser Microbiología. Argentina: 20a. ed. Médica Panamericana; 1997 pp. 22-33 y 554, 759.
11. Jawetz, Melnick y Adelberg. Microbiología Médica. Mexico: 25a.ed. Mc Graw Hill; 2010 pp. 145-225
12. Instituto Nacional de Salud. Protocolo de Vigilancia y Control de ETAS [en línea] 2010. Febrero [Citada: 2020 setiembre 5]
Disponible en:
<https://www.minsalud.gov.co/comunicadosPrensa/Documents/ETA.pdf>
13. FDA. Los 14 patógenos principales transmitidos por los alimentos. [en línea] 2018. Setiembre [Citado: 2020 setiembre 8]
Disponible en:

- <https://www.fda.gov/food/people-risk-foodborne-illness/los14patogenos-principales-transmitidos-por-los-alimentos-de-seguridad-alimentaria-para-futuras>
14. Aguilar-Ancori. Actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* de aceites esenciales de cinco plantas andinas. [En línea] 2018 [Citada: 2020 setiembre 8]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v35n1/a28v35n1.pdf>
 15. Becerra C. Evaluación fitoquímica y actividad antiparasitaria del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh. [Tesis para optar grado de Master en Programa de Ciencias Biológicas]. Brasil: Universidad Federal de Pernambuco Centro de Bociencias. Brasil; 2018 [Citada: 2020 setiembre 09] Disponible en:
<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/31720/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O%20C%C3%ADcero%20Ramon%20Bezerra%20dos%20Santos.pdf>
 16. Becker N, Martins L. y col. Propiedades biológicas del ACEITE esencial de *Eugenia uniflora* L.: composición fitoquímica y actividad antimicrobiana contra bacterias Gram negativas. [En línea] 2017 [Citada: 2020 setiembre 12] Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/326194705_BIOLOGICAL_PROPERTIES_OF_Eugenia_uniflora_L_ESSENTIAL_OIL_CHEMICAL_COMPOSITION_AND_ANTIMICROBIAL_ACTIVITY
 17. Nargella S. y col. Composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de las hojas y flores de *Eugenia klotzschiana* Berg (*Myrtaceae*) [En línea] 2017 [Citada: 2020 setiembre 12] Disponible en:
<http://www.scielo.br/pdf/aabc/v89n3/1678-2690-aabc-201720160652.pdf>
 18. Nara L. y col. Actividad antibacteriana y potencial modulador de antibióticos del aceite esencial de *Eugenia jambolana* [En línea] 2017 [Citada:2020 setiembre 13] Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28778018/>
 19. Simonetti E. y col. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Eugenia anómala* y *Psidium salutare* (*Myrtaceae*) frente a *Escherichia coli* y *Listeria monocytógenes* [En línea] 2016[Citada: 2020 setiembre 13] Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbpm/v18n1/1516-0572-rbpm-18-1-0009.pdf>

20. Renan G. y col. Caracterización química y la actividad antimicrobiana de extracto hidroetanólico de las hojas de *Eugenia florida* (Myrtaceae). [En línea] 2016 [Citada: 2020 setiembre 13]
Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/304887047_Chemical_characterization_and_antimicrobial_activity_of_hydroethanolic_crude_extract_of_Eugenia_florida_DC_Myrtaceae_leaves
21. Chellan M. y col. Chemical profiling of leaf essential oil, antioxidant potential and antibacterial activity of perfil químico del aceite esencial de la de *Syzygium lanceolatum* (Lam) Wt. Y Arn. (Myrtaceae) [En línea] 2016 [Citada: 2020 setiembre 17] Disponible en:
<https://pdfs.semanticscholar.org/b291/070575d979581c7bd1f044197143e9aed38a.pdf>
22. Flores J. Determinacion de la actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de *Luma chequen* (molina) a. gray “arrayan” frente a *Streptococcus mutans*. [Tesis para optar el título Profesional de Cirujano Dentista]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015 [Citada: 2020 setiembre 8]
Disponible en:
<https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/3690>
23. OPS/OMS. Situación de las Plantas Medicinales en Perú [en línea] 2018. Marzo [Citado: 2020 setiembre 17]: [3-4pp]
Disponible en:
https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50479/OPSPER19001_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y
24. Carlos Muñoz Razo. Como elaborar y Asesorar una Investigación de Tesis [en línea] 2^{da} ed. México: Pearson; 2011 [citado:2020 setiembre 17].
<http://www.indesgua.org.gt/wp-content/uploads/2016/08/Carlos-Mu%C3%B1oz-Razo-Como-elaborar-y-asesorar-una-investigacion-de-tesis-2Edicion.pdf>
25. Martin G. LOS COMPUESTOS FENÓLICOS: UN ACERCAMIENTO A SU BIOSÍNTESIS, SÍNTESIS Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA [en línea] 2017. Diciembre [Citado: 2020 setiembre 19]; 9(1); [83,84]

- Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/6383704.pdf>
26. Ochoa L. y Sarmiento A. Estudio Fitoquímico de la Especie vegetal *Bucquetia glutinosa* (Melastomataceae) y Evaluación de su Actividad Biológica. [En línea] 2018. [Citada:2020 setiembre 19]; [05-22pp]
Disponible en:
<https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/996/1/TESIS%202018-05-22.pdf>
27. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Marcha Fitoquímica Extracción y Fraccionamiento [En línea] 2011 [Citada: 2020 setiembre 19].
Disponible en: <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/wp-content/uploads/2009/04/TP2-EXTRACCION-2011-F.pdf>
28. Ramirez L. Metodologías para Evaluar in vitro la Actividad Antibacterian de Compuestos de Origen Vegetal [en línea] 2009 [Citado: 2020 setiembre 19]
Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4713047.pdf>
29. Picazo J. Procedimientos en Microbiología [en línea] 2000 [Citado: 2020 setiembre 19]
Disponible en:
<https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia10.pdf>
30. Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 26:118-122; 1998.
31. Bouhdid S, Abrini J, Amensour M, Zhiri A, Espuny MJ, Manresa A. Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil. *J. Appl. Microbiol.*, 109: 1139-1149; 2010.
32. Radulovic NS, Blagojevi PD, Stojanovi-Radi ZZ, Stojanovi NM. Anitimicrobial plant metabolites: structural diversity and mechanism of action. *Curr. Med. Chem.*, 20: 932-952; 2013.

Anexo A: Ficha de recolección de datos: evaluación microbiológica del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá)

CEPAS	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923				<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922				<i>Salmonella</i> entérica sv Enteritidis ATCC 13076			
MUESTRA	Halos de inhibición (mm)				Halos de inhibición (mm)				Halos de inhibición (mm)			
Concentración del aceite esencial (%)	n			x	n			x	n			x
	1	2	3		1	2	3		1	2	3	
	100	12,0	12,0	12,0	12,0	10,0	10,0	9,0	9,6	9,0	9,0	9,0
75	0,0	0,0	0,0	0,0	10,0	10,0	10,0	10,0	8,0	8,0	8,0	8,0
50	0,0	0,0	0,0	0,0	8,0	8,0	8,0	8,0	7,0	7,0	7,0	7,0
25	0,0	0,0	0,0	0,0	7,0	7,0	7,0	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0

n: número de repeticiones de la prueba microbiológicas

x: promedio de los tres valores obtenidos

Anexo B: Operacionalización de variables

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES								
TÍTULO: Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial de las hojas de <i>Eugenia stipitata</i> McVaugh (arazá) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella entérica</i> sv <i>Enteritidis</i> .								
VARIABLE	Tipo de variable según su naturaleza y escala de medición	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA	VALOR FINAL	CRITERIOS PARA ASIGNAR VALORES
<p>Variable independiente:</p> <p>aceite esencial <i>Eugenia stipitata</i> McVaugh (arazá).</p> <p>Variable dependiente:</p> <p>Actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial.</p>	<p>Tipo de variable según su naturaleza:</p> <p>Cualitativa</p> <p>Escala de medición:</p> <p>Ordinal</p>	<p>Expresada en el porcentaje en el cual el aceite esencial de <i>Eugenia stipitata</i> McVaugh es diluido con dimetilsulfóxido.</p>	<p>Capacidad inhibitoria del crecimiento de bacterias por acción de la sustancia en estudio.</p>	<p>Concentración del Aceite esencial de <i>Eugenia stipitata</i> McVaugh (arazá)</p>	<p>100 75 50 25</p>	<p>%</p>	<p>Nula (-)</p> <p>Sensible (+)</p> <p>Muy Sensible (++)</p> <p>Sumamente sensible (+++)</p>	<p>Inferior a 8mm</p> <p>8 a 14 mm</p> <p>14 a 20 mm</p> <p>Superior a 20 mm</p>
				Halos de inhibición	Diámetro de Halos de inhibición	mm		

Anexo C: Evidencias del trabajo de campo

Obtención del aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá)



Método por arrastre de vapor de agua.



Obtención del aceite esencial.



Obtención de 7 ml de aceite esencial.

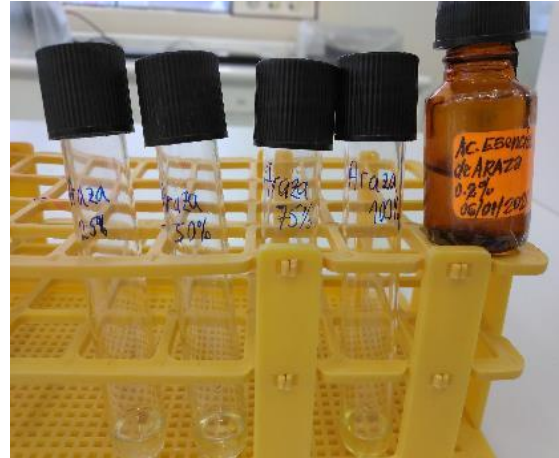


Transferencia del aceite a un frasco ámbar.

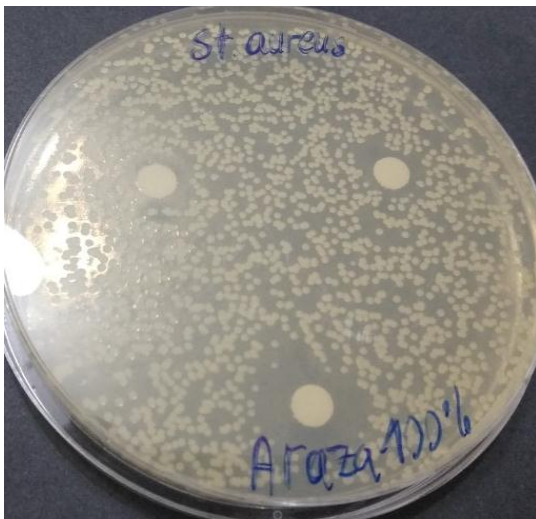
**Resultados de la Evaluación Antimicrobiana del
aceite esencial de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá).**



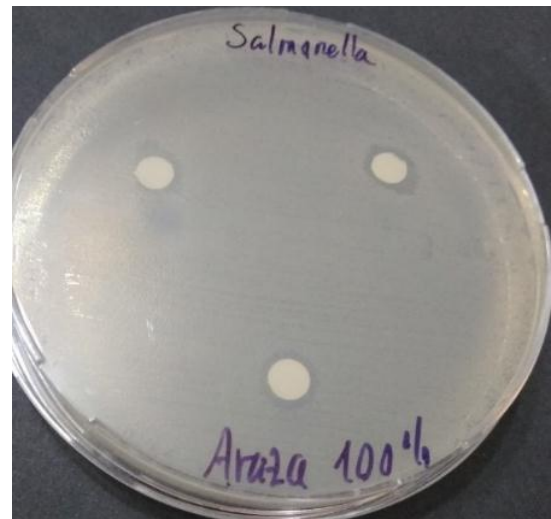
**Tamizaje fitoquímico de las hojas
de *Eugenia stipitata* McVaugh**



**Dilución del aceite esencial en
cuatro concentraciones.**



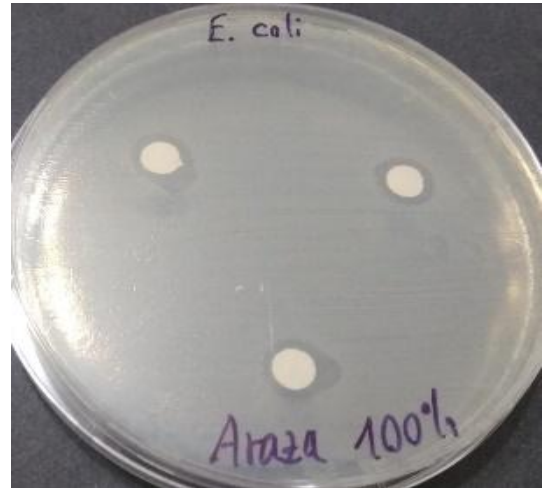
**Capacidad antimicrobiana del
aceite esencial al 100% sobre *S.*
aureus.**



**Capacidad antimicrobiana del
aceite esencial al 100% sobre
Salmonella entérica sv Enteritidis.**



Capacidad antimicrobiana del aceite esencial al 75% sobre *E. coli*.



Capacidad antimicrobiana del aceite esencial al 100% *E. coli*.