



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ATOMIZADO DE *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) SOBRE CEPAS DE *Escherichia coli* EN ESTUDIOS IN VITRO”

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES

Bach. BONIFACIO YANGUA, ELIZABETH PAOLA

Bach. CHUMPITAZ CAMAN, JHAIR

ASESORA:

Mg. BRAVO ARAUJO, GLORIA TULA

LIMA - PERÚ

2021

DEDICATORIA

El respectivo trabajo de investigación se lo dedico en primer lugar a Dios, por proporcionarme la solidez y el coraje para seguir luchando por mis metas; a mis padres, Esperanza y Santiago, por apoyarme en todo este camino de mi vida académica para seguir creciendo profesionalmente día a día y confiando en mí, por sus nobles lecciones y su incondicional soporte día tras día; y a mis hermanos, Fredy y Vanessa, que me cuidan y guían desde el cielo.

Elizabeth Paola Bonifacio Yangua

Este trabajo se lo dedico a Dios, por brindarme vida, bienestar y la oportunidad de lograr mis metas; a mis padres, Pablo y Sabelith, por apoyarme y darme los mejores consejos en todo momento, los cuales me ayudaron a ser mejor persona y a culminar mi carrera universitaria.

Jhair Chumpitaz Caman

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecemos a nuestro Dios por brindarnos la sabiduría necesaria para afrontar cada problema de nuestros días. También a la Universidad María Auxiliadora en cuyos recintos se forman a los futuros profesionales para el desarrollo y progreso del país, en especial a la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela profesional de farmacia y bioquímica donde tuvimos la accesibilidad a los conocimientos necesarios de grandes instructores para nuestro desenvolvimiento profesional.

A nuestra asesora Mg. Sc. Bravo Araujo, Gloria Tula por su apoyo, veteranía y suficiencia al orientarnos en el progreso de nuestra tesis.

Al personal del Laboratorio de especialidad de Ciencias de la Salud por su disposición y paciencia durante la ejecución del proyecto.

A nuestra familia, amigos y demás personas que cooperaron en el desarrollo de este trabajo investigativo, y que han estado con nosotros en el transcurso de nuestra etapa universitaria brindándonos su afecto y su compañerismo durante la trayectoria profesional.

Índice general

	Paginas
Resumen	1
Abstract	2
I. INTRODUCCIÓN	3-9
II. MATERIALES Y MÉTODOS	10
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	10
2.2 Población, muestra y muestreo	10
2.3 Variables de la investigación	11
2.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos	11
2.5 Procesos de recolección de datos	11-18
2.6 Métodos de análisis estadísticos	19
2.7 Aspectos éticos	19
III. RESULTADOS	20-29
IV. DISCUSIÓN	33
4.1. Discusión de resultados	33-37
4.2. Conclusiones	37
4.3. Recomendaciones	38
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39-44
ANEXOS	45-64

Índice de tablas

Tabla N°1: Prueba de solubilidad del extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada).	20
Tabla N°2: Lectura de metabolitos primarios de la marcha fitoquímica del extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada).	22
Tabla N°3: Lectura de metabolitos secundarios de la marcha fitoquímica del extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada).	23
Tabla N°4: Lectura de los halos de inhibición según las concentraciones propuestas del extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada) en comparación con el fármaco de Ciprofloxacina.	25-26
Tabla N°5: Lectura de los halos de inhibición conforme las concentraciones del extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada), Promedio y Desviación estándar.	27
Tabla N° 6: Porcentaje del Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) del extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada) con relación a las concentraciones utilizadas.	29

Índice de Figuras

Figura N°1: Prueba de Solubilidad	21
Figura N°2: Metabolitos Primarios	22
Figura N°3: Metabolitos Secundarios	24

Índice de Anexos

Anexo A: Operacionalización de variables	46
Anexo B: Instrumento de recolección de datos	47-50
Anexo C: Constancia emitida por el botánico del “servicio de estudio taxonómico, determinación de muestras botánicas y certificación” de la UNMSM	51
Anexo D: Certificado de calidad del extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada)	52
Anexo E: Constancia de factura del servicio de la empresa A1 del Perú Multindustrias S.A.C.	53
Anexo F: Certificado de calidad de las cepas <i>Escherichia coli</i> . (ATCC® 25922™).	54-55
Anexo G: Diagrama de flujo de la preparación y obtención del extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada).	56-57
Anexo H: Evidencias fotográficas del trabajo de campo	58-64

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad antibacteriana del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) frente al crecimiento bacteriano de la cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

Métodos: Se recolectaron 37 kg de maca morada fresca, el cual se procedió a limpiarla y secarla, obteniéndose así 30 kg de maca morada seca para luego ser pulverizada en la empresa A-1 Del Perú Multindustrias S.A.C. obteniéndose finalmente 11 kg de extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada), al cual se le realizaron las pruebas de solubilidad y la marcha fitoquímica para comprobar presencia y/o ausencia de metabolitos primarios y secundarios. Para la evaluación microbiológica se utilizó el Sistema de Cilindro placa (Difusión en agar) para determinar la actividad antibacteriana, trabajando a concentraciones del 25 %, 50 % y 75 % del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) frente a cepas de *Escherichia coli*, siendo comparados con el antibiótico Ciprofloxacina (5 ug) como control positivo.

La información obtenida fue evaluada ingresándola al programa Excel y Word para la realización de gráficos y tablas estadísticas que nos permitan consolidar la información recopilada de las muestras de estudio y corroborar las hipótesis.

Resultado: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no presentó halos de inhibición en ninguna de las 3 concentraciones evaluadas.

Conclusiones: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no presenta actividad antibacteriana frente a la cepa bacteriana de *Escherichia coli*.

Palabras claves: *Lepidium meyenii Walp*; actividad antibacteriana; Ciprofloxacina; *Escherichia coli*; extracto atomizado.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antibacterial activity of the atomized extract of *Lepidium meyenii Walp* (purple maca) against the bacterial growth of the *Escherichia coli* strain in In Vitro studies.

Methods: 37 kg of fresh purple maca were collected, which was cleaned and dried, thus obtaining 30 kg of dried purple maca and then being sprayed in the company A-1 Del Perú Multindustrias S.A.C. finally obtaining 11 kg of atomized extract of *Lepidium meyenii Walp* (purple maca), to which the solubility tests and phytochemical gait were performed to check presence and / or absence of primary and secondary metabolites. For microbiological evaluation, the Plate Cylinder System (Diffusion in Agar) was used to determine antibacterial activity, working at concentrations of 25%, 50% and 75% of the atomized extract of *Lepidium meyenii Walp* (purple maca) against strains of *Escherichia coli*, being compared to the antibiotic Ciprofloxacin (5 ug) as positive control.

The information obtained was evaluated by entering the Excel and Word program for the realization of charts and statistical tables that allow us to consolidate the information collected from the study samples and corroborate the hypotheses.

Result: The atomized extract of *Lepidium meyenii Walp* (purple maca) did not exhibit inhibition halos at any of the 3 concentrations evaluated.

Conclusions: The atomized extract of *Lepidium meyenii Walp* (purple maca) has no antibacterial activity against the bacterial strain of *Escherichia coli*.

Keywords: *Lepidium meyenii Walp*; antibacterial activity; Ciprofloxacin; *Escherichia coli*; atomized extract.

I. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a la *Escherichia coli* como una bacteria de prioridad crítica en la “Lista de patógenos prioritarios con resistencia antibacteriana” con capacidad de provocar infecciones graves y a menudo letales, como infecciones de la corriente sanguínea y neumonía¹.

La *Escherichia coli* es un microorganismo bacteriano común que vive en los intestinos de los animales y las personas. Dentro de la variedad de cepas de E. coli, la 0157:H7 es la más peligrosa dado que produce una toxina muy perjudicial que originaría que nos enfermemos gravemente, dicha bacteria pertenece dentro del grupo de las Gram negativas y ha registrado aproximadamente 630 millones de casos por infecciones gastrointestinales en el mundo y de 5 a 6 millones de muertes al año. Así mismo es la responsable del 50% de las Infecciones Intrahospitalarias (ITU). Esta bacteria presenta sensibilidad frente a diferentes fármacos antimicrobianos; pero según el tipo de infección, por lo general los antimicrobianos de tercera generación: sulfatrimetoprim, fluoroquinolonas y cefalosporinas son usados frecuentemente para controlar las infecciones causadas por este tipo de bacteria con excepción de la E. coli (STEC) productora de toxina Shiga². La ciprofloxacina, fármaco que pertenece a la clase de fluoroquinolona, es uno de los principales medicamentos empleados para prevenir, tratar o aliviar determinadas infecciones bacterianas y posee también un amplio espectro de acción según el nivel de actividad. La farmacorresistencia o resistencia a los antimicrobianos se da cuando un microorganismo sean bacterias, virus, hongos o parásitos sufren alteraciones que hacen que los medicamentos utilizados para tratar o curar las afecciones causadas por estos pierdan efectividad. Hoy en día las afecciones causadas por bacterias en el tracto urinario son la causa habitual de consulta en pacientes ambulatorios y la causa más común de infecciones en mujeres, también es la segunda patología infecciosa más común luego de las infecciones respiratorias³. Es por ello que la resistencia a los antimicrobianos se ha convertido en un problema emergente y motivo de gran preocupación, ya que dificulta el enfoque terapéutico de los pacientes infectados⁴.

La Maca ha ido ganando popularidad por parte de los consumidores con el transcurrir del tiempo debido a sus altas propiedades nutritivas y múltiples beneficios

aportados al organismo, siendo algunos de ellos los efectos positivos en la función sexual, en la producción de espermatozoides, en la reproducción sexual femenina, en la capacidad para recordar, la depresión y la ansiedad, como alimento estimulante y contra la hiperplasia benigna de próstata (HBP), problemas en los huesos como la osteoporosis y Síndrome metabólico. Sus propiedades son gracias a la presencia de los metabolitos presente en ella, encontrándose azúcares libres, aminoácidos con alto componente de prolina, uridina, ácido málico y glucosinolatos, macaenos y macamidias (ácidos grasos poliinsaturados y sus correspondientes amidas)⁵.

Desde la antigüedad el hombre ha empleado las plantas o partes de ellas para aliviar, curar, prevenir o tratar muchas enfermedades, práctica que se continúa realizando hasta nuestros días con la finalidad de seguir buscando nuevos principios activos responsables de alguna actividad biológica frente a una patología, favoreciendo así a la síntesis de medicamentos que beneficien la salud del paciente, es por ello que la praxis de la medicina herbaria se centra en el uso terapéutico de plantas que contengan activos farmacológicos que sustituyan a los fármacos convencionales o se usen de manera coadyuvante. De la cubierta vegetal se usa sus metabolitos activos en diferentes maneras de preparación, para aliviar, tratar o curar alguna patología mejorando así el estado de salud⁶.

La medicina alternativa forma parte fundamental en la química farmacéutica, puesto que es el punto de partida para nuevas investigaciones con plantas que puedan tener actividad terapéutica para ser utilizadas de manera amplia en aquellos lugares alejados de la ciudad donde los pacientes no puedan recibir una atención hospitalaria, siendo así su única alternativa para aliviar o curar su dolencia o patología.

Según la problemática planteada. ¿Presentará actividad antibacteriana el extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) frente a cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro?

Lepidium meyenii Walp (maca morada) crece por encima de los 4000 m de altitud en los Andes Centrales del Perú, pertenece a la familia Brassicaceae, sus variedades vienen dadas por el color del hipocótilo los cuales son utilizados como suplemento alimenticio y por sus propiedades medicinales⁷. Resultados

recopilados de estudios sobre los efectos de la maca atribuyen que la maca negra presenta mejores resultados respecto a la espermatogénesis, memoria y fatiga, y la maca roja es la que mejor revierte la Hiperplasia Benigna de próstata y la osteoporosis inducida experimentalmente como lo menciona Gonzales G et al. (2009)⁸. Otro estudio señala su uso en la reducción del estrés y la fatiga como lo muestra Ronceros G y Ramos W et al. (2005) quienes obtuvieron como resultado el aumento en un 10.3% en el consumo de oxígeno en diez futbolistas profesionales a quienes se les suministró 3 cápsulas de 500 mg de maca fresca concentrada una vez al día durante 60 días⁹.

Los resultados de la composición de la maca analizada por diversos grupos de investigadores mediante una serie de técnicas analíticas afirman que la maca es abundante en proteínas, ácidos grasos insaturados y minerales¹⁰. La maca contiene glucosinolatos o heterósidos sulfocianogénéticos que son los metabolitos secundarios más importantes en ella. Se han aislado 9 tipos de metabolitos, de las cuales glucotropaeolin es el más abundante¹¹. Presentan actividad biológica, particularmente anticancerígeno y capacidad para combatir patógenos. Los glucosinolatos y sus derivados son aquellos compuestos con posible actividad anticancerígena¹². Existen otros derivados tales como los compuestos fenólicos, fitoesteroles, macaenos, macamidas, macahidantoínas, meyeniiinas, alcaloides que se forman dentro del ciclo productivo de la maca que trabajan sinérgicamente para evitar patologías crónicas, es por ello que este alimento es incluido como parte de una dieta balanceada muy frecuentemente en nuestra cultura alimenticia, más no debería ser considerado como una alternativa farmacéutica (nutracéutico) como pretende hacernos creer la industria farmacéutica¹³.

Escherichia coli (*E. coli*) es una bacteria que con frecuencia se encuentra dentro del intestino del ser humano y en animales de sangre caliente. Dentro de la variedad de cepas de *E. coli*, la 0157:H7 es la más peligrosa, dado que es productora de la toxina Shiga que se transmite al ser humano directamente por el consumo de alimentos contaminados, por ejemplo: la carne picada cruda o poco cocida, la leche cruda, las hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas. En la mayor parte de los casos la patología llega a poner en riesgo la vida, es el caso del Síndrome hemolítico urémico en niños pequeños y personas de la tercera edad¹⁴. La *E. coli* también es responsable de las infecciones del tracto urinario (ITU) que son uno de

los principales motivos de consulta en Atención Primaria y tienen todavía una gran incidencia en el ambiente hospitalario. Existen diversos factores que dan origen a las Infecciones del Tracto Urinario tales como los años de vida de la persona, el aumento de glucosa en sangre, la obstrucción del tracto urinario, lesiones de la médula espinal, la exposición a agentes bacterianos y el historial de hospitalización también influirá el perfil etiológico del paciente o simplemente las técnicas quirúrgicas como la cateterización vesical. Más del 95 % de las ITU están provocadas por una única cepa bacteriana de *E. coli* y entre el 75-95 % de los sucesos son de cistitis aguda no complicada¹⁵.

Entre los antecedentes para el desarrollo del trabajo de investigación se dispone de los siguientes:

Prudencio, J et al. (2018) demostraron la presencia de alcaloides, sustancias fenólicas, flavonoides, azúcares, taninos y antraquinonas en cremas preparadas a diferentes concentraciones de maca¹⁶.

Meissner, H et al. (2016) encontraron glucosinolatos en 4 fenotipos principales (amarillo, púrpura, roja, y negra) de maca peruana (*Lepidium peruvianum*) cultivados en Junín y Ancash, independientemente del lugar de cultivo, los fenotipos rojos mostraron el mayor contenido de glucosinolatos totales, seguidos de los negros y morados, mientras que los amarillos mostraron niveles más bajo de concentración¹⁷.

Quispe, J et al. (2018) en su estudio identificaron la presencia de *E. coli* y *Pseudomonas* sp aislados de cultivos positivos de pacientes varones adultos con infecciones prostáticas de la Clínica Urológica San Carlos de la ciudad de Juliaca y determinaron la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del Isaño (*Tropeaolum tuberosum*) en el aumento in vitro de las cepas de *E. coli* y *Pseudomonas* sp. Los resultados obtenidos indican que las infecciones prostáticas causadas por cepas de *E. coli* fueron de un 16.7 % y por *Pseudomonas* sp, del 3.6%. Los extractos de (*Tropeaolum tuberosum*) presentaron efecto de inhibición frente a estas bacterias siendo el mayor efecto en Isaño negro en comparación con el Isaño amarillo ($P < 0.0001$), no obstante, ninguno de los extractos mostró inhibición superior a los agentes antibacterianos de control convencional (amikacina y ceftriaxona)¹⁸.

Gutiérrez, P et al. (2015) en su revisión sistémica con valores estadísticos de ensayos clínicos sobre la efectividad y certeza de la ciprofloxacina en el tratamiento de las infecciones urinarias (IVU) agudas o complicadas en personas mayores de edad (+18), llegaron a la conclusión después de una rigurosa selección y análisis de 30 tipos de ensayos de enzimas convertidora de la angiotensina (ECA), que la ciprofloxacina tiene el mismo efecto que otros antimicrobianos en la eliminación bacteriana y el tratamiento clínico, ya sea al final o en etapas posteriores al tratamiento¹⁹.

Marrero, J et al. (2015) en su trabajo mencionan que las infecciones de las vías urinarias son una causa frecuente en las consultas de salud. El objetivo fue actualizar y renovar la prevalencia y susceptibilidad a los agentes antibacterianos que se encuentran presentes en nuestro medio. Como resultado obtuvieron que la *E. coli* es la bacteria más frecuente que también afecta a las mujeres, mostrando alta resistencia a la Ampicilina (83,7 %), y alrededor del (50,0 %) de resistencia a la Ciprofloxacina, Kanamicina y Ceftazidima; con buena sensibilidad ante la Gentamicina, Cefotaxima y Ceftriaxona²⁰.

Arias, J et al. (2017) en su artículo plantea que un uso irracional de fármacos antimicrobianos puede favorecer la aparición de la resistencia bacteriana y disminuir la efectividad de estos fármacos. El resultado al que llegaron fue que dependiendo de la clase de bacteria y cepa a examinar existe la posibilidad de presentar farmacoresistencia a múltiples agentes antibacterianos²¹.

Guevara, A et al. (2016) aplicaron el método de esterilización orgánica (OSS) en maca para identificar factores dentro del proceso: tiempo y temperatura de inyección de vapor saturado para observar la reducción de cantidad de ciertos microorganismos aerobios, mohos, levaduras, *E. coli*, Salmonella y coliformes totales evaluando la influencia de los glucosinolatos sobre estos. Como resultado obtuvieron una reducción de la carga microbiana la cual fue de 99,9%, 50% y 93,3% para aerobios, mohos y levaduras, respectivamente, manteniéndose el contenido de glucosinolatos durante el proceso en 1,5 µmol/g/d²².

El propósito de este estudio es dar a conocer la actividad antibacteriana que posee *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) frente a cepas de *Escherichia coli*; de

comprobarse el objetivo se obtendría una alternativa fitoterapéutica para tratar patologías causadas por este tipo de bacteria.

En razón de ello, la presente investigación tiene una justificación teórica, ya que permitirá obtener mayor información sobre los tipos de metabolitos secundarios responsables del efecto terapéutico y validar científicamente la actividad antibacteriana que presenta *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) frente a la cepa de *Escherichia coli*, además aumentará la posibilidad de su uso racional como un producto natural antibacteriano evitando así los efectos secundarios en los pacientes y por otro lado rescatar el uso de esta planta como un tratamiento alternativo antibacteriano fitoterapéutico. Por otro lado presenta una justificación social porque al comprobarse su actividad antibacteriana se beneficiaría a la población de escasos recursos económicos al tener a la mano una alternativa segura y de bajo costo para tratar enfermedades causadas por este tipo de bacteria.

El objetivo del estudio será evaluar la actividad antibacteriana del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) frente al crecimiento bacteriano de la cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

Como hipótesis general de estudio se describe que el extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) presenta actividad antibacteriana frente al crecimiento bacteriano de la cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.

Enfoque: Cuantitativo, porque se realizó las diversas mediciones del diámetro de los halos formados en el período de tiempo establecido para evaluar la actividad antibacteriana.

Experimental: Porque se manipuló la variable independiente, extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) con la variable dependiente, actividad antibacteriana frente a cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

Transversal: Porque la recolección de datos se dió por única vez en un momento dado.

Explicativo: Porque buscó relacionar las diferentes concentraciones del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) y la actividad antibacteriana frente a cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

2.2. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población vegetal estuvo constituida por muestra fresca de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) obtenida del distrito de Pazos a 3840 msnm en la provincia de Tayacaja, departamento de Huancavelica.

La muestra fue evaluada por un Botánico del “Servicio de Estudio Taxonómico, Determinación de Muestras Botánicas y Certificación” de la UNMSM.

La muestra vegetal estuvo constituida por 11 Kilogramos de extracto atomizado de maca morada en polvo fino que fue atomizado en la empresa A-1 Del Perú Multindustrias S.A.C.

Por otro lado, en el estudio Microbiológico se tuvo como población a las Cepas estandarizadas del microorganismo bacteriano *Escherichia coli* (ATCC® 25922™) y como muestra las Placas de Petri de Agar Mueller Hinton cultivadas con cepas de *Escherichia coli* (ATCC® 25922™).

2.3. VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

Variable Independiente: Extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada)

Definición conceptual: Producto obtenido de la maceración por 7 días en etanol al 70% del polvo de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada), concentrado y atomizado a 70°C, conservado y empacado en sachets, para posteriormente ser administrado según concentraciones.

Definición Operacional: Concentración del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada).

Variable dependiente: Actividad Antibacteriana frente a cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

Definición conceptual: Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento o propagación de cepas bacterianas.

Definición Operacional: Sensibilidad bacteriana frente al extracto atomizado de maca morada *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) obtenida por medición del diámetro de los Halos de inhibición.

2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica de recolección de datos estuvo basada mediante la observación, se utilizó un vernier calibrado, con lo cual se registraron los datos obtenidos de la medición de los halos. Los datos fueron recopilados en fichas de datos, desde la prueba de solubilidad, la marcha fitoquímica hasta la actividad antibacteriana.

2.5. PROCESO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

El procedimiento para la recolección de datos estuvo basado en el tipo de observación no participativa, realizando el seguimiento a los siguientes procesos:

2.5.1. Recolección y autenticación botánica

La muestra fresca se recolectó del distrito de Pazos que se encuentra a 3840 msnm de la provincia de Tayacaja del departamento de Huancavelica, ubicándose en coordenadas de 12°15' 23"S 75°04'13"O de longitud y latitud respectivamente. Para esta investigación se recolectaron 37 kg de maca morada fresca. La muestra fue recolectada el 15 de abril a horas 9 am aproximadamente. Se tuvo un cuidado en la selección y recolección de la parte de la planta, para nuestro estudio sólo se recolectaron las hojas y tallos del hipocótilo que estén en un buen estado biológico, los cuales fueron limpiados y desinfectados para luego secarlos por un mes a temperatura ambiente, se los mantuvo en conservación, hasta la realización de la extracción.

Posteriormente la muestra fue evaluada por un Botánico del “**Servicio de Estudio Taxonómico, Determinación de Muestras Botánicas y Certificación**” de la UNMSM, localizado en el distrito de Jesús María, Av. Arenales 1256. Lima.

2.5.2. Preparación del material vegetal

Para esta investigación se recolectaron 37 kg de maca morada fresca que posteriormente se procedió a separar las hojas y tallos del hipocótilo para luego proceder al lavado y limpieza de los mismos hasta conseguir una totalidad libre de sustancias extrañas y/o contaminantes para su posterior tratamiento y finalmente secado por un mes al medio ambiente, obteniéndose 30 kg de maca seca, la cual se procedió a pulverizar en la empresa **A-1 Del Perú Multindustrias S.A.C.** ubicada en el distrito de Surco, en la ciudad de Lima.

2.5.3. Obtención del extracto atomizado

La empresa procedió a macerarlo por 7 días con etanol al 70%, posteriormente todo el macerado fue filtrado y se descartó el material sólido y el líquido con etanol y agua, fue concentrado y evaporado en un concentrador tipo calandria hasta obtener un concentrado de los nutrientes del extracto hidroalcohólico de maca morada que finalmente fue atomizado a 70 °C.

Se obtuvo 11 kg de extracto atomizado de maca morada en polvo fino de color beige claro que se procedió a empacar en sachets para una mejor conservación del producto.

2.5.4. Prueba de solubilidad y Marcha Fitoquímica

Para determinar la solubilidad de la muestra del hipocótilo de *Lepidium meyenii* Walp (maca morada), se utilizó una variedad de solventes, donde se colocó 5 mg de muestra del extracto atomizado de maca morada y se adicionó 1 ml de solvente de diferentes polaridades.

Extracto de maca morada 5 mg + 1 ml Metanol

Extracto de maca morada 5 mg + 1 ml Etanol

Extracto de maca morada 5 mg + 1 ml Cloroformo

Extracto de maca morada 5 mg + 1 ml Agua destilada

Extracto de maca morada 5 mg + 1 ml Éter

Extracto de maca morada 5 mg + 1 ml Hexano

Extracto de maca morada 5 mg + 1 ml Butanol

Extracto de maca morada 5 mg + 1 ml Acetona

Extracto de maca morada 5 mg + 1 ml Acetato de etilo

Para la marcha fitoquímica se trabajó con el método de Domínguez A y Lock O, para corroborar la presencia o ausencia de metabolitos activos de la matriz vegetal, fundamentados en la inserción de pruebas de coloración y precipitación haciendo uso de reactivos específicos²³⁻²⁴.

- Determinación de taninos

Con Gelatina- cloruro de sodio. Se agregó 3 gotas de reactivo y 1 mL de muestra para luego llevarlo a centrifugar. Un precipitado blanco indica un resultado positivo.

Con Cloruro Férrico o Alumbre férrico. Se agregó unas gotas de cloruro férrico a la muestra. Un color negro azulado indica que el tanino deriva del ácido pirogálico y un color verde deriva de la catequina.

- Determinación de flavonoides

Con Reactivo Shinoda. En un tubo de ensayo se agregó 1 mL de muestra y una pequeña limadura de magnesio, más 3 gotas de ácido clorhídrico (HCl) concentrado. Si hay presencia de un intenso burbujeo y coloración naranja débil a un más intenso pasado los 10 minutos es una reacción positiva.

- Determinación de quinonas

Solubilidad en Hidróxido de sodio (NaOH al 5%). En el tubo de ensayo se añadió 0.2 mL de etanol y 0.4 mL de NaOH al 5% con 10 mg de muestra. El cambio de coloración indica positivo a compuestos quinónicos. La muestra presenta pigmentos quinónicos si da como resultado una coloración que van del amarillo pasando por el rojo hasta el violeta.

Reacción de Bornträger. A 1 gramo de muestra se añadió NaOH 5% en caliente, se procedió a filtrar, se dejó enfriar y se acidificó con HCl 20%, luego se añadió benceno, se agitó y se dejó en reposo. Finalmente se separó la fase bencénica a la cual se le añadió NH_4OH . Una coloración rosada a roja, indica que existen antraquinonas en la muestra.

- Determinación de alcaloides

Reactivo de Dragendorff. Se preparó disolviendo 8 gr de nitrato de bismuto pentahidratado ($\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en 20 mL de ácido nítrico (HNO_3) al 30 % con una solución de 27.2 g de Yoduro de potasio (KI) en 50 ml de agua, se dejó reposar, se descartó el sobrenadante y se diluyó hasta un volumen de 100 ml. Al agregar unas cuantas gotas de este reactivo a una solución ácida de la muestra se observará la aparición de un precipitado que va del naranja al rojo.

Reactivo de Mayer. Se disolvió 1.36 g de cloruro de mercurio (HgCl_2) en 60 ml de agua, se adicionó 10 ml de una solución conteniendo 5 g de Yoduro de potasio (KI) y se diluyó hasta un volumen de 100 ml. Si al agregar un

exceso de reactivo a una solución acidificada de la muestra se observa un precipitado de blanco a crema significa que es positivo.

Bertrand (ácido sílico). Se adicionó 10 gotas de muestra problema en un tubo de ensayo, el solvente (agua destilada) que se utilizó para disolver se evaporó por baño María. Se agregó 5 gotas de HCl 10% más 3 gotas de Bertrand. La presencia de un precipitado blanco es una reacción positiva.

Sonnenschein (ácido fosfomolibdico). Se adicionó 10 gotas de muestra a analizar y el solvente (agua destilada) que se utilizó para disolver se evaporó por baño María. Con 5 gotas de HCl 10% y 3 gotas del reactivo de Sonnenschein. El precipitado de color amarillo-verdoso es una respuesta positiva.

- Determinación de Carbohidratos

Molish. Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de Molish, se agitó y adicionó ácido sulfúrico concentrado. Si se observa un anillo violeta la reacción es positiva.

Antrona. Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de Antrona. Coloración verde es positivo.

Fehling. Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de Fehling A y 3 gotas de Fehling B luego se calentó en baño María. La coloración rojo ladrillo es positivo.

- Aminoácidos libres y grupos amino

Ninhidrina. Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de ninhidrina. Luego se calentó en baño María. La coloración violácea es una reacción positiva.

- Triterpenos y esteroides

Lieberman-Burchard. Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo indicador. Si presenta una coloración verde-azulado, se evidencia esteroides, si la coloración es rojo-naranja el compuesto tiene triterpenoides.

- Saponinas

Generación de espuma. Se agregó 1 ml de muestra problema en 5 ml de agua destilada y se agitó fuertemente por 1 min. La formación de 0.5 a 1 cm de espuma estable por 15 min, demuestra una reacción positiva.

- Glicósidos

Se agregó 10 gotas de muestra problema con 3 gotas del reactivo de ácido pícrico en hidróxido de sodio (reactivo de Baljet). Si presenta una coloración anaranjada es positivo.

2.5.5. Ensayo microbiológico

Se utilizó como control cepa a la bacteria *Escherichia coli* (ATCC® 25922™), adquirida del Laboratorio GenLab, ubicado en Jr. Cápac Yupanqui N°2434 Lince-Lima-Perú, como control positivo se emplearon los discos de sensibilidad LyD Insumed SAC del antibiótico de ciprofloxacina 5 ug, según lo establecido por el INS y agua estéril como control negativo.

- Para el medio de cultivo se utilizó el Agar Mueller-Hinton. Este fue elaborado de acorde a las indicaciones del fabricante. Para ello se utilizó 15.2 g del agar y se disolvió en 400 ml de agua destilada, pH a 7.2 - 7.4 con solución de NaOH al 0.1 N. Se procedió a esterilizar en autoclave a una temperatura de 121° C por 15 minutos. Se dejó a T° aprox. de 40 °C - 45 °C y luego se procedió a plaquear, distribuyendo el medio en las placas de Petri hasta un nivel aproximado de 4 mm. Se dejó solidificar el medio de cultivo durante 20 minutos y se guardó en refrigeración de 2 a 6 °C, hasta el momento de ser usado.
- Para la elaboración del estándar (0,5 mc. Farland) para el inóculo se agregó 99.5 ml de H₂SO₄ al 0.18 M. y 0.5 ml de BaCl₂ al 0.048 M (solución acuosa) dando la formación de un precipitado de sulfato de Bario suspendido, fórmula aproximada para 100 ml de agua purificada. Se mezcló en constante movimiento para mantener la suspensión. Se procedió a ajustar bien las tapas y se llevó a almacenar en un lugar oscuro a temperatura de entre 2 – 25 °C evitando la congelación y sobrecalentamiento hasta el momento de su uso.

- En la Dilución para las diferentes concentraciones al 25 %, 50 % y 75 % del extracto, estos se almacenaron en frasco ámbar.
 - Concentración al 25% = 2.5 g de extracto atomizado y 7.5 ml de agua estéril
 - Concentración al 50% = 5 g de extracto atomizado y 5 ml de agua estéril
 - Concentración al 75% = 7.5 g de extracto atomizado y 2.5 ml de agua estéril

- Para el desarrollo de la preparación del inóculo, en un tubo que contiene de 4 a 5 ml de caldo Tripticasa soya se colocó con un asa de kolie la cepa respectiva. Para la incubación del caldo necesitamos T° C de 35 °C a 37 °C, hasta que este alcance la turbidez del estándar: 0,5 de la escala de Mc. Farland (2 a 6 horas). Dicha suspensión que se preparó contendrá aproximadamente 1.5 x 10⁹ U.F.C. /ml para *E. coli*. (ATCC® 25922™). Posteriormente se realizó el sembrado del inóculo bacteriano, transcurridos los 15 minutos y con la turbidez del inóculo indicado, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión, donde se rotó muchas veces presionando firmemente y con delicadeza la pared interna del tubo sobre el nivel del líquido para remover el exceso del inóculo. Finalmente se sembró en la superficie seca de la placa, estriando con el hisopo en cuatro direcciones diferentes para asegurar una distribución uniforme del inóculo.

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

Con la ayuda de un saco bocado de acero se procedió a realizar 4 pocillos a una distancia alterna en las 20 placas con un diámetro de 6 mm con previa esterilización del mismo. Posteriormente con unas jeringas de insulina estériles se procedió a colocar 0.1 ml de extracto al 25%, 50% y 75 % correspondientemente en cada pocillo y los controles (positivo y negativo).

Grupo I: Ciprofloxacina 5 ug (control positivo), se colocó un disco de sensibilidad a un total de 20 repeticiones.

Grupo II. Agua estéril (control negativo). Se adicionó 0.1 ml a cada pocillo de sensibilidad a un total de 20 repeticiones.

Grupo III: Extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) al 25%: se colocó 0.1 ml a cada pocillo de sensibilidad en un total de 20 repeticiones.

Grupo IV: Extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) al 50%: se colocó 0.1 ml a cada pocillo de sensibilidad en un total de 20 repeticiones.

Grupo V: Extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) al 75%: se colocó 0.1 ml a cada pocillo de sensibilidad en un total de 20 repeticiones.

- Incubación

Una vez realizado la siembra del inóculo en las placas se procedió a rotuladas para ser llevadas a estufa para su incubación a temperatura de 37 °C. Con la rotulación ya realizada se obtuvo 5 grupos de trabajo (control positivo, negativo, y tres grupos de diferentes concentraciones del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) al 25%, 50% y 75%.)

- Medición de los halos de inhibición. Se utilizó un vernier calibrado transcurridas las 24 horas para la medición del diámetro de los halos de inhibición del crecimiento de la cepa bacteriana y se calculó el porcentaje de la actividad inhibitoria relativa respecto al control positivo (cirpofloxacina) y las concentraciones estudiadas. Para interpretar los resultados se tomó como referencia las pautas por Duraffourd C y Lapraz J, (1983)²⁵.

2.6. MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información obtenida se evaluó ingresándola al programa Excel y Word para la realización de gráficos y tablas estadísticas que nos permitan consolidar la información recopilada de las muestras de estudio y corroborar las hipótesis.

2.7. ASPECTOS ÉTICOS

Las normas éticas indican que los experimentos deben realizarse de manera primaria, para así en un inicio poder conocer las propiedades beneficiosas y el comportamiento farmacológico de los agentes terapéuticos. Bradford Hill precisó el método del ensayo clínico como un experimento de rango cuidadoso y ético diseñado, con el fin de poder responder a preguntas concretas formuladas previamente, destacando también la protección del daño, la incapacidad o la muerte.

III.RESULTADOS

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para realizar este estudio se utilizó la cepa de *Escherichia coli* (ATCC® 25922) el cual mediante un estudio In vitro se demostró si existe o no actividad antibacteriana en el extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada), se trabajó con 5 grupos de estudio, teniendo como grupo control positivo (ciprofloxacina 5 ug), control negativo (agua estéril) y las diversas concentraciones del extracto atomizado de maca morada, cada una de ellas con 20 repeticiones con un intervalo de tiempo de 24 horas para comprobar la sensibilidad de la cepa bacteriana mencionada.

Para una mejor interpretación de los resultados, estos fueron agrupados en tablas y gráficos por cada prueba realizada.

3.1 Prueba de solubilidad

Tabla N°1: Prueba de solubilidad del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada).

Solventes	Resultado
Metanol	+
Etanol	++
Cloroformo	-
Agua destilada	+++
Éter	-
Hexano	-
Butanol	+
Acetona	-
Acetato de etilo	-

Leyenda: - Nulo + Poco ++ Moderado +++ Abundante

Fuente: Elaboración propia

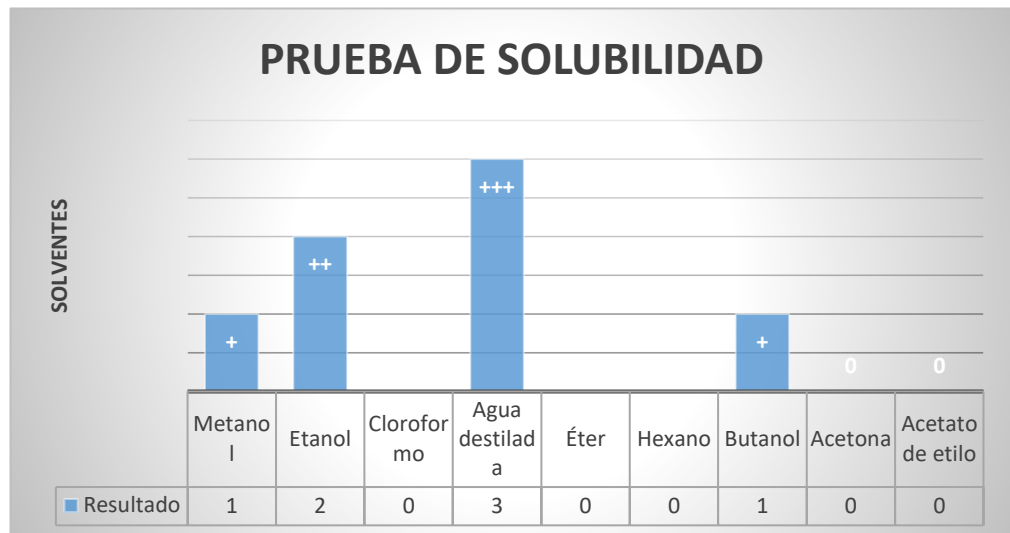


Figura N°1: Prueba de Solubilidad

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N°1 y figura N°1 se observan los resultados de la prueba de solubilidad del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) para la cual se emplearon diferentes solventes con diferentes polaridades. El solvente con el que se observó abundante solubilidad (+++) fue el agua destilada, seguido del etanol con moderada solubilidad (++) , poca solubilidad (+) para metanol y butanol y nula solubilidad (-) para cloroformo, éter, acetato de etilo, acetona y hexano.

3.2 Marcha fitoquímica

Tabla N° 2: Lectura de metabolitos primarios de la marcha fitoquímica del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada).

Identificación de metabolitos primarios		
Metabolitos Primarios	Reactivo de Identificación	Resultado
Carbohidratos	Molish	+
	Antrona	+
	Fehling A y B	+++
Aminoácidos	Ninhidrina	++

Leyenda: Ausente – Leve + Moderado ++ Abundante +++

Fuente: Elaboración propia

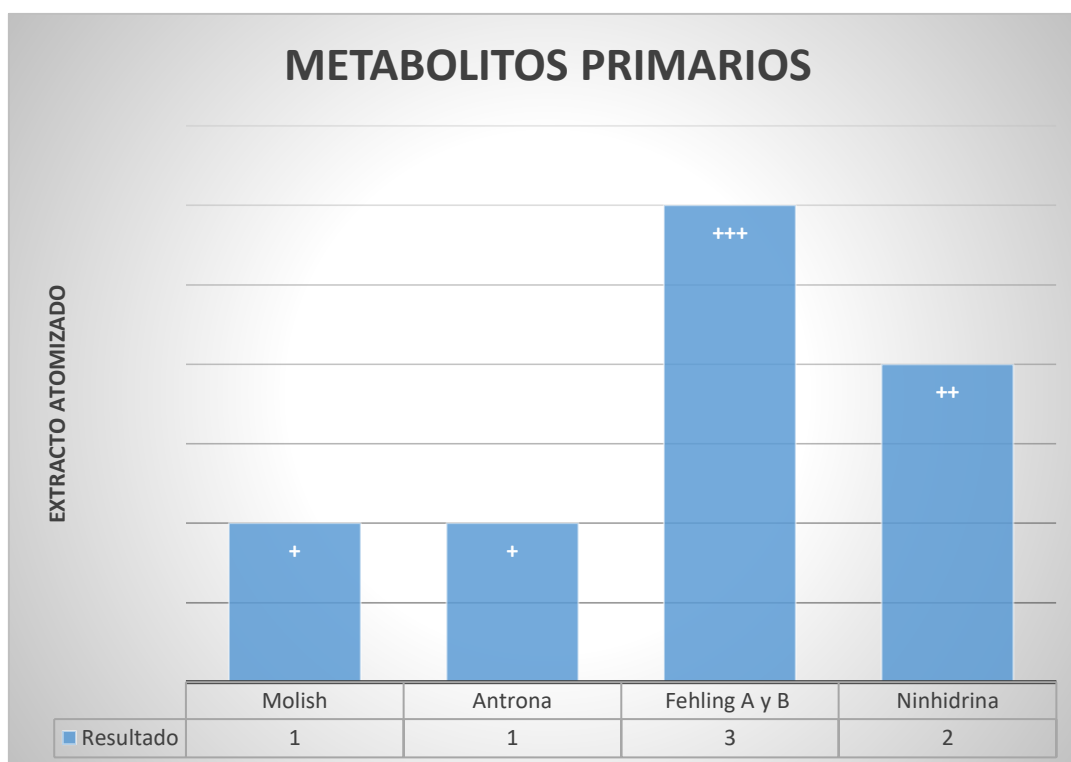


Figura N°2: Metabolitos Primarios

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N°2 y figura N°2, se muestra los resultados de la Marcha fitoquímica del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) ensayo en donde se identificó mediante los reactivos Fehling A y B la presencia de abundante (++++)

carbohidratos y moderada (++) presencia de aminoácidos, estos identificados mediante el reactivo de Ninhidrina.

Tabla N° 3: Lectura de metabolitos secundarios de la marcha fitoquímica del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada).

Identificación de metabolitos secundarios		
Metabolitos Secundarios	Reactivo de Identificación	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	++
	Mayer	+++
	Bertrand	+++
	Sonneschein	+++
Flavonoides	Shinoda	++
Taninos	Gelatina 1%	+
	Cloruro férrico	-
Quinonas	NaOH al 5%	-
	Bornträger	-
Triterpenos y esteroides	Lieberman-Burchard	+
Saponinas	Espuma	-
Glicósidos	Ácido pícrico	+++

Leyenda: Ausente – Leve + Moderado ++ Abundante +++

Fuente: Elaboración propia

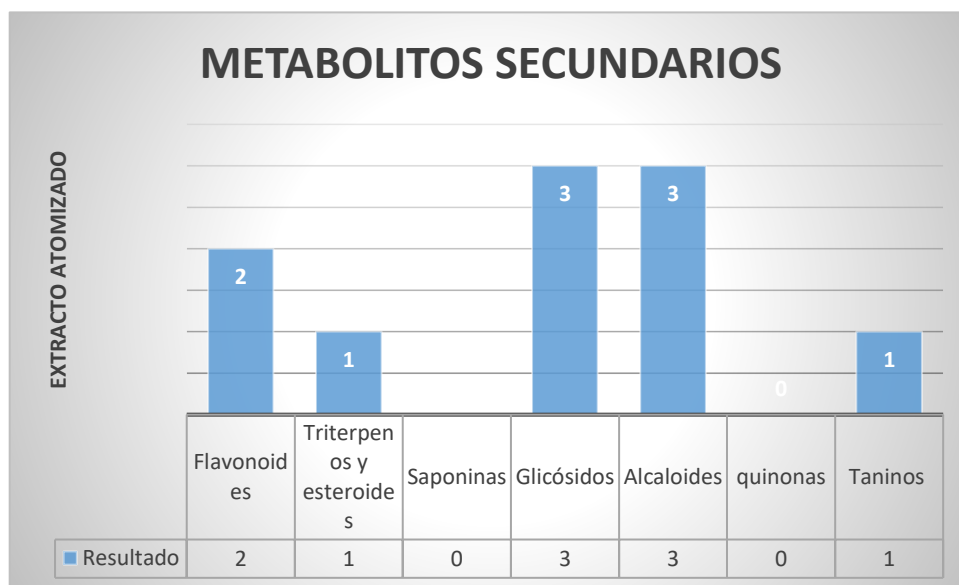


Figura N°3: Metabolitos Secundarios

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N°3 y figura N°3. Se observó que los metabolitos secundarios del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) identificados mediante los reactivos de Mayer, Bertrand, Sonneschein, fueron abundantes (+++) para alcaloides y Glicósidos utilizando Ácido pícrico, resultados moderados (++) para la identificación de flavonoides utilizando el reactivo de Shinoda; una leve (+) presencia para Triterpenos y esteroides identificados con el reactivo de Lieberman-Burchard y taninos utilizando Gelatina 1%.

3.3 Evaluación de la Actividad antibacteriana in vitro

Tabla N°4: Lectura de los halos de inhibición según las concentraciones propuestas del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) en comparación con el fármaco de Ciprofloxacina.

EXTRACTO ATOMIZADO DE <i>LEPIDIUM MEYENII WALP.</i>					
CONCENTRACIONES					
HALOS DE INHIBICION (mm)					
N° DE PLACA	Control positivo (Ciprofloxacina 5 ug)	Control negativo (Agua estéril)	Extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii</i> W. 25 mg/ml	Extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii</i> W. 50 mg/ml	Extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii</i> W. 75 mg/ml
1	44.52 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
2	44.91 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
3	45.04 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
4	46.26 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
5	44.82 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
6	45.74 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
7	46.77 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
8	46.75 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
9	46.63 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
10	43.51 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
11	44.54 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
12	48.26 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
13	45.12 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
14	46.27 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
15	39.60 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

16	47.28 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
17	47.94 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
18	45.36 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
19	48.53 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
20	45.99 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm

LEYENDA

Nulo : Menor a 8 mm
Sensible límite: 9-14 mm
Sensible medio: 15-19 mm
Sensible alto: Mayor a 20 mm

Fuente: Escala por Duraffourd (1983)

En la tabla N° 4 se evidenciaron los resultados obtenidos del crecimiento bacteriano de la cepa de *Escherichia coli* transcurridas las 24 horas en las 20 placas Petri. El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) a concentraciones de 25%, 50 % y 75 % presentaron un halo de inhibición de 0 mm, indicándonos según la leyenda que resultados menores a 8 mm es nulo, por ende no presentaron actividad antibacteriana. Sin embargo, la cepa *Escherichia coli* frente a nuestro control positivo (Ciprofloxacina) tuvo un resultado de sensibilidad alta, pues sus halos de inhibición se encontraron en un margen de 39.60 mm hasta un 48.53 mm.

Tabla N°5: Lectura de los halos de inhibición conforme las concentraciones del extracto atomizado de *Lepidium meyenii* Walp (maca morada), Promedio y Desviación estándar.

CONCENTRACION Y CONTROLES	LECTURA DE HALOS DE INHIBICIÓN A LAS 24 HORAS																				Σ	PROMEDIO (mm)	DESVIACION STANDRAR		
	PN° 1	PN° 2	PN° 3	PN° 4	PN° 5	PN° 6	PN° 7	PN° 8	PN° 9	PN° 10	PN° 11	PN° 12	PN° 13	PN° 14	PN° 15	PN° 16	PN° 17	PN° 18	PN° 19	PN° 20					
25%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75%	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ciprofloxacino	44.52	44.61	45.04	46.26	44.82	45.74	46.77	46.75	46.63	43.51	44.54	48.26	45.12	46.27	39.6	47.28	47.94	45.36	48.53	45.99	913.54	45.677	1.96678498		
Agua estéril	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

En la tabla N°5, se reportan los promedios y la desviación estándar de los resultados obtenidos transcurridos las 24 horas.

En las muestras, los resultados obtenidos con el control positivo (ciprofloxacina) presentó altos halos de inhibición, asumiendo por ello que la cepa *Escherichia coli* es altamente sensible frente al antibiótico; esto se afirma porque el rango promedio de las 20 placas fue de 45.69 mm y según leyenda medidas mayores a 20 mm presentan sensibilidad alta; mientras que para las concentraciones utilizadas no se observó inhibición de halos por lo que se afirma que no presenta actividad antibacteriana.

3.4. Fórmula para la determinación del porcentaje de inhibición.

El Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) se evalúa en porcentaje, para lo cual se calcula mediante la siguiente fórmula teniendo como factores, el cálculo del diámetro de la zona de inhibición del control positivo y el cálculo del halo de los extractos evaluados.

Porcentaje de Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR)

$$\text{PEIR} = \frac{\text{X } \emptyset \text{ Halo de inhibición del extracto}}{\text{X } \emptyset \text{ Halo de inhibición del control positivo}} \times 100$$

Tabla N° 6: Porcentaje del Efecto Inhibitorio Relativo (PEIR) del extracto atomizado de *Lepidium meyenii walp* (maca morada) con relación a las concentraciones utilizadas.

Concentración del extracto atomizado	Promedio (mm)	Porcentaje del Efecto Inhibitorio Relativo
25 %	0	0
50%	0	0
75%	0	0
Ciprofloxacino	45.69	

En la tabla N°6 se observan los resultados del efecto inhibitorio del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) expresados en porcentaje para las 3 concentraciones estudiadas, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{PEIR} = \frac{0}{45.69} \times 100 = 0 \%$$

Para las 3 concentraciones se observó que el halo de inhibición del crecimiento de la cepa de *Escherichia coli* con relación al extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) en concentración de 25 %, 50% y 75 % fue de 0 mm y del ciprofloxacina como fármaco control de 45.69 mm. Esto indica que no hubo variación en el halo de inhibición del extracto utilizado.

3.5. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.5.1 Contrastación de la hipótesis general

Ho: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no presenta actividad antibacteriana frente al crecimiento bacteriano de la cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

Ha: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) presenta actividad antibacteriana frente al crecimiento bacteriano de la cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

Según los resultados observados en la Tabla N° 5, donde se considera la media y la desviación estándar de las lecturas de los halos de inhibición para cada grupo de estudio, el extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) para todas las concentraciones no presenta actividad antibacteriana frente las cepas de *Escherichia coli*, dado que las mediciones de los halos tuvieron valores de 0 mm. Por tanto, se rechaza la hipótesis alterna (Ha) y se acepta la hipótesis nula (Ho).

Conclusión: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no presenta actividad antibacteriana frente al crecimiento bacteriano de la cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

3.1.2. Contrastación de hipótesis específicas

✓ Hipótesis específica 1

Ho: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no posee metabolitos secundarios relacionados con la actividad antibacteriana.

Ha: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) si posee metabolitos secundarios relacionados con la actividad antibacteriana.

Para contrastar esta hipótesis se realizó la marcha fitoquímica del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) con los diversos reactivos (Tabla N° 3) y se observó las diferentes coloraciones y precipitaciones que se formaron, se evidenció la presencia de metabolitos tales como alcaloides y Glicósidos de forma abundante, moderada presencia para flavonoides, leve

presencia para Triterpenos y esteroides, y una ausencia de saponinas y quinonas. Estos metabolitos secundarios estarían relacionados con la actividad antibacteriana. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (Ho) y se acepta la hipótesis alterna (Ha).

Conclusión: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) si posee metabolitos secundarios relacionados con la actividad antibacteriana.

✓ Hipótesis específica 2

Ho: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no presenta actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli* en estudios In Vitro a diferentes concentraciones.

Ha: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) si presenta actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli* en estudios In Vitro a diferentes concentraciones.

Una vez realizado el procedimiento experimental se observó que el extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) en concentración de 25%, 50% y 75 % no presentaron actividad antibacteriana frente a las cepas de *Escherichia coli*, ya que no se observó la formación de halos de inhibición a las 24 hrs de incubación. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis alterna (Ha) y se acepta la hipótesis nula (Ho).

Conclusión: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no presenta actividad antibacteriana frente a las cepas de *Escherichia coli* en estudios In Vitro a diferentes concentraciones.

✓ Hipótesis específica 3

Ho: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no presenta mayor actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli* en estudios In Vitro comparada con ciprofloxacina.

Ha: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) presenta mayor actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli* en estudios In Vitro comparada con ciprofloxacina.

En la tabla N° 4, se evidencia que las medias de los diámetros a diferentes concentraciones son inferiores a los obtenidos por el control positivo (Ciprofloxacina 5 ug). Por lo tanto, se acepta la Hipótesis nula (Ha) y se rechaza la Hipótesis alterna (Ha).

Conclusión: El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no presenta mayor actividad antibacteriana sobre cepas de *Escherichia coli* en estudios In Vitro comparada con ciprofloxacina.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión de resultados

Con el estudio realizado se llega a comprobar que el extracto atomizado de *Lepidium meyenii* Walp (maca morada) no presenta actividad antibacteriana frente al crecimiento bacteriano de la cepa de *Escherichia coli* en estudios In Vitro.

- Marcha Fitoquímica

Se han realizado una gran variedad de investigaciones para comprobar la existencia de metabolitos activos con propiedades terapéuticas beneficiosas, ya sea para curar, aliviar, tratar o prevenir ciertas patologías que dañen la salud del ser humano derivado de matrices naturales, es por eso que la marcha fitoquímica nos permitirá determinar la presencia de metabolitos secundarios responsables de la posible actividad antibacteriana presente en el extracto atomizado de *Lepidium meyenii* Walp (maca morada), nuestra investigación demostró la presencia de alcaloides y Glicósidos de forma abundante, presencia moderada para flavonoides, una leve presencia de Triterpenos, esteroides y taninos, como lo menciona **Leitáo, N et al. (2020)**²⁶ en su artículo de revisión donde reportó alcaloides, glicósidos, taninos y saponinas en la maca, de los cuales le atribuye la posible actividad antibacteriana al grupo de los Glicósidos, específicamente los Glucosinolatos que son componentes característicos de las Brassicaceas que al sufrir hidrólisis enzimática liberan isotiocianatos, estos últimos responsables de la pungencia y del sabor amargo de este grupo de plantas, estos resultados son comparables a los hallados por **Ishida, M et al. (2014)**²⁷ donde en su revisión se menciona que los glucosinolatos (S-glucopyranosyl tiohidrooximatos) son los únicos metabolitos secundarios del grupo de los Glicósidos naturales que se hayan principalmente en las plantas del grupo botánico Brassicaceae. A pesar de que las funciones de los Glucosinolatos siguen sin estar claras, se conoce que los isotiocianatos son aquellos que poseen un sabor y olor penetrante o irritante y que estos podrían estar asociados con la defensa vegetal de los microbios.

Otra revisión realizada por **Lock O y Rojas R (2002)**²⁸ quienes señalan que *Lepidium meyenii* presenta metabolitos secundarios con actividad biológica, mencionando a los glucosinolatos, isotiocianatos, macaenos, macamidias,

alcaloides y flavonoides, como los posibles compuestos responsables de las actividades biológicas atribuidas a la maca. Resultados comparados con los hallados en la revisión de **Carvalho F y Ribeiro P (2019)**²⁹ donde concluyen que en extractos de *Lepidium meyenii* se hallan una diversidad estructural de 101 metabolitos, tales como Glucosinolatos, isotiocianatos, macaenos, macamidas, alcaloides, flavonoides, fitoesteroles, polisacáridos y ácidos grasos; de las cuales muchos de ellos mostraron importantes actividades biológicas, como antioxidante, antimicrobiano, citotóxico e incluso capacidad de resistencia a la natación.

- Evaluación de la actividad antibacteriana In Vitro

Evaluando los resultados obtenidos por el Método de Cilindro-placa, podemos mencionar que este método es adecuado para evaluar de forma cualitativa la actividad antibacteriana de extractos naturales, tal como señala el Instituto Nacional de Salud (INS) hallados en la investigación de **Sacsquispe R y Velásquez J (2002)**³⁰ en la que sustentan ciertos parámetros como el medio de cultivo, condiciones de incubación, concentración de inóculo inicial del microorganismo y concentración del producto ensayado que deben tomarse en cuenta para que los resultados obtenidos sean los adecuados.

La cepa bacteriana de *Escherichia coli* (ATCC® 25922™) tuvo un crecimiento normal, con ello se demostró que el extracto atomizado a las concentraciones del 25%, 50 % y 75 % presentaron un nulo halo de inhibición bacteriano. Estos resultados pueden haber sido influenciados por múltiples factores como por ejemplo el método de secado, almacenamiento, método de extracción, diferencia entre altas temperaturas, etc. En nuestra investigación se recolectaron 37 kg de maca morada fresca de las cuales se separaron las hojas y tallos del hipocótilo para ser lavados y desinfectados; fueron secados al medio ambiente por 1 mes y finalmente pulverizado por el método de atomización, comparando los resultados con los de **Esparza, E et al. (2015)**³¹ quienes mencionan que el momento de la cosecha es un momento de estrés y cambio para la planta, pues es en este momento en donde la falta de contacto con el suelo desprovee a la planta de agua y nutrientes que en consecuencia producirá cambios en su metabolismo. Por lo general se decía que el secado sólo era una manera de preservar por más tiempo los hipocótilos y por ende deberían de producir independientemente del tipo de secado los mismos

efectos que ya han sido estudiados en la maca; sin embargo en uno de sus estudios realizados demostraron que si varía la composición química de la maca según el método de secado que se haya utilizado, resultado de ello demuestra que los hipocótilos que han sido liofilizados luego de haber sido congelados en nitrógeno líquido presentan un alto contenido de glucosinolatos y muy bajo de macamidas y bencilamina, por otro lado la harina preparada de maca que ha sido secada al sol presenta un contenido inverso de estos componentes, es decir alto en macamidas y bencilamina y bajo en glucosinolatos; por otro lado la diferencia de las altas temperaturas del día y temperaturas bajo 0 °C por la noche provocan una ruptura celular y por ende la liberación de mirosinasa (enzima que hidroliza al bencilglucosinolato haciendo que disminuya de forma progresiva para formar bencilisotiocianato, estos son utilizados como método de defensa). Menciona también que es en las primeras semanas donde se produce mayor cantidad de isotiocianatos y que si se quiere obtener una maca rica en glucosinolatos la maca debe ser liofilizada casi fresca o fresca de manera que así conserve su composición inicial.

Otro posible factor es el tamaño y color del hipocótilo; un estudio realizado por **Sanchez S (2017)** ³² quien muestra en sus resultados, que la maca con mayor tamaño se debe a que tuvo una buena nutrición durante el tiempo de crecimiento, por ende concentrará una mayor cantidad de metabolitos primarios y/o secundarios en el parénquima reservante, en cambio aquellos hipocótilos que tuvieron menor tamaño captaron una menor cantidad de nutrientes. Otra revisión hecha por **Chen, Q et al. (2018)** ³³ confirmaron que existe una correlación entre los colores de maca y el contenido total de glucosinolatos, pues obtuvieron como resultado de su estudio que la maca amarilla tiene menor contenido de aminoácidos y mayor de carbohidratos, ácidos orgánicos y esteroides, la cual es adecuada para considerarse como alimento básico energético, la maca negra presentó un mayor contenido de isoleucina (Ile), tirosina (Tyr), triptófano (Trp), aminoácidos esenciales precursores de los glucosinolatos, demostrando así que esta contiene un alto contenido de glucosinolatos, mientras que la maca violeta presentaron aminoácidos como la glicina (Gly), serina (Ser) y treonina (Thr) que sirven para regular la síntesis de carnosina muscular, ideal para mejorar el rendimiento de la actividad física; estos resultados coinciden con los nuestros como posible factor del porqué nuestra

muestra no obtuvo la actividad antibacteriana que se buscaba, pues se utilizaron muestras de hipocótilos de maca morada de pequeño y mediano tamaño.

- Evaluación de la actividad antibacteriana In Vitro comparada con Ciprofloxacina

Para evaluar los halos de inhibición se tomaron como referencia las pautas dadas por **Duraffourd C y Lapraz j (1983)**²⁵ quienes consideran:

- a) sensibilidad límite, cuando presenta un diámetro entre 9 a 14 mm
- b) sensibilidad media, cuando presenta un diámetro entre 14 a 20 mm
- c) sumamente sensible, cuando presenta un diámetro mayor a 20 mm.

En la presente investigación se demostró que el extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada), no presentó actividad antibacteriana en ninguna de las 3 concentraciones que se estudió, pues no se observó la presencia de halos de inhibición; sin embargo con nuestro control positivo de ciprofloxacina si presentó halos de inhibición, estos resultados positivos pueden ser atribuidos al pH del medio de cultivo en que se preparó para la inoculación de la cepa de *Escherichia coli*, pues este tuvo un pH de 7.2, encontrándose dentro del rango establecido por otras revisiones, como es el caso de la investigación de **Patricelli, P et al. (2017)**³⁴ donde mencionan que la actividad bactericida del Ciprofloxacina frente a la *Escherichia coli* va a depender de ciertos aspectos farmacodinámicos tales como: la eficacia del medicamento Ciprofloxacina (CFX), el modo de acción de CFX y el efecto del pH, evaluando con ello si el CFX presenta o no acción antibacteriana frente a esta bacteria; sin embargo menciona también que el modo de acción de CFX sobre la *E. coli* será diferente según la población bacteriana, es decir la acción puede ser más alta frente a una población que es más sensible comparado con otra sub-población donde las bacterias sean persistentes. Por otro lado el efecto del pH sobre la farmacodinámica de CFX sobre *E. coli* tiene 2 aspectos importantes, si se produce un descenso del mismo no afectará el desarrollo ni el metabolismo de la bacteria; pero sí se reducirá la actividad antibacteriana del CFX, por ello para que exista un incremento de la concentración inhibitoria mínima (CIM) se necesita que el pH del medio de cultivo descienda de 7,4 o alcance valores entre rango de 6,5 y

5,5. Otro estudio realizado por **Sánchez, J et al. (2003)**³⁵ muestra resultados de la sensibilidad In Vitro de uro cultivos donde se demuestra que el medicamento de ciprofloxacina presenta un porcentaje de sensibilidad en un rango de 77,1%-81,6%; de esta manera conociendo el patrón de sensibilidad de estos gérmenes permitiría el uso más adecuado en caso de alguna infección.

4.2. Conclusiones

- ✓ Los metabolitos secundarios que presentó el extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) fueron abundante (+++) para alcaloides y glicósidos, resultados moderados (++) para la identificación de flavonoides, una leve (+) presencia de Triterpenos, esteroides y taninos; y una ausente (-) presencia de saponinas y quinonas.
- ✓ El extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) no presentó actividad antibacteriana en ninguna de sus concentraciones evaluadas.
- ✓ La ciprofloxacina presentó mayor actividad antibacteriana frente las cepas de *Escherichia coli* comparadas con las concentraciones del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada).

4.3 Recomendaciones

- ✓ Realizar nuevas investigaciones en el campo fitoquímico con la planta de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) para conocer con mayor exactitud cuál de todos los metabolitos activos presentes en ella son los que tienen relación con cada actividad terapéutica. Se recomienda para ello realizar investigaciones con un solo tipo de tamaño (grandes) de hipocótilos de maca pues se considera por otras investigaciones, que a mayor tamaño mayor concentración de metabolitos primarios y secundarios presentes en ella.

- ✓ Promover el desarrollo de nuevas investigaciones utilizando otros métodos de extracción y secado de los hipocótilos de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) para las pruebas de comparación microbiológicas del extracto, de este modo podremos evaluar y demostrar que tanto influyen los diferentes tipos de extracción y secado; y cómo estos pueden variar la actividad antibacteriana de la planta.

- ✓ Evaluar y analizar otras concentraciones del extracto de *Lepidium meyenii walp* (maca morada) con un rango de periodo de tiempo de evaluación inhibitorio antibacteriano mayor al trabajado en nuestra investigación frente a esta cepa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud [internet]. Who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently. 27 de febrero de 2017. GINEBRA. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed#:~:text=Entre%20tales%20bacterias%20se%20incluyen,la%20corriente%20sangu%C3%ADnea%20y%20neumon%C3%ADas>
2. Barrios Arpi M, Morales Siever C, Villacaqui Ayllon E. Susceptibilidad Antibiótica de Cepas de Escherichia coli en Crías de Alpaca con y sin Diarrea. *Rev. Investig. Vet. Perú* [Internet]. 2016 Abr [citado 2021 Ene 29]; 27(2): 381-387. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172016000200022
3. Castrillón Spitia J, Machado-Alba J, Gómez Idarraga S, Gómez Gutierrez M, Remolina León N, Ríos Gallego J. Etiología y perfil de resistencia antimicrobiana en pacientes con infección urinaria. *Infectio*. Colombia [Internet]. 2019; [citado 2019 Junio 20] 23(1): 45-51. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v23n1/0123-9392-inf-23-01-00045.pdf>
4. Serra Valdés M. La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Rev haban cienc méd* [Internet]. 2017 Jun [citado 2021 Ene 29]; 16(3): 402-419. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2017000300011&lng=es
5. Sifuentes-Penagos G, León-Vásquez S, Paucar-Menacho L. Estudio de la Maca (*Lepidium meyenii* Walp.), cultivo andino con propiedades terapéuticas. *Scientia Agropecuaria*. Perú [Internet]. 2015 jun [citado 2021-01-29] 6(2): 131-140. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S207799172015000200007
6. Gallegos-Zurita M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, *An. Fac.*

- med. Ecuador* [Internet]. 2016 Oct [citado 2021 Ene 29]; 77(4): 327-332. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002
7. Castro Bedriñana J, Chirinos Peinado D, Calderón Inga J. Calidad nutricional del rastrojo de maca (*Lepidium peruvianum* Chacón) en cuyes. *Rev. Investig. Vet. Perú* [Internet]. 2018 Abr [citado 2021 Ene 29]; 29(2): 410-418. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172018000200003&script=sci_arttext
 8. Gonzales G, Villaorduña L, Gasco M, Rubio J, Gonzales C. Maca (*Lepidium meyenii* Walp), una revisión sobre sus propiedades biológicas. *Rev. perú. med. exp. salud pública* [Internet]. 2014 Ene [citado 2021 Ene 29]; 31(1): 100-110. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000100015
 9. Ronceros G, Ramos W, Garmendia F, Arroyo J, Gutiérrez J. Eficacia de la maca fresca (*Lepidium meyenii* walp) en el incremento del rendimiento físico de deportistas en altura. *An Fac med* [Internet]. 30 dic .2005 [citado 29 ene.2021]; 66(4):269-73. Available from: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/1321>
 10. Romero V, Tiradoa A, Duránb M, Dávalos J. PROPIEDADES ENERGÉTICAS DE LA HARINA DE MACA (*Lepidium peruvianum* Chacón o *Lepidium meyenii* Walpers). *Revista de la Sociedad Química del Perú* [Internet]. marzo, 2016; [citado 2020 diciembre 30], 82(1):38-48. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/3719/371946049005.pdf>
 11. Shimabuku Vega N. Composición química de *Lepidium meyenii walp.* (maca): comparando procedencias y colores del órgano de reserva [Tesis para optar el título profesional]. Lima-Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia. 2017

12. Vásquez-Villalobos V, Rojas-Padilla C, Rojas-Naccha J, Hernández-Bracamonte O, Vásquez-Angulo J, Barreto-Alama O. Optimización de la extracción de glucosinolatos de maca (*Lepidium meyenii*) por superficie de respuesta y algoritmos genéticos. *Scientia Agropecuaria* Perú [Internet]. Mayo, 2016; (3): 275 – 284. [citado Julio 19, 2019] Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v7nspe/a16v7nspe.pdf>
13. Yábar Villanueva E, Reyes De La Cruz V. La Maca (*Lepidium meyenii* walpers) alimento funcional andino: bioactivos, bioquímica y actividad biológica. *Rev. investig. Altoandín*. [Internet]. 2019 Abr [citado 2021 Ene 29]; 21(2): 139-152. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2313-29572019000200005
14. Organización Mundial de la salud [internet]. E. coli. cit.7 de febrero 2018. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
15. Betrán A, Lavilla María J, Cebollada R, Calderón J, Torres L. Resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias nosocomiales y adquiridas en la comunidad del Sector Sanitario de Huesca 2016-2018. *Rev Clin Med Fam* [Internet]. 2020 [citado 2021 Ene 29] ; 13(3): 198-202. Available from: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2020000300198
16. Prudencio Quiroz J; Bustamante Arroyo E. Determinación in vitro de la actividad fotoprotectora UVB en una crema de protección solar formulada con extracto hidroglicólico de *Lepidium meyenii* (Maca). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú. 2018. From: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/7820>
17. Meissner H, Mscisz A, Piatkowska E, Baraniak M, Mielcarek S, Kedzia B, Holderna-Kedzia E, Pisulewski P. Peruvian Maca (*Lepidium peruvianum*): (II) Phytochemical Profiles of Four Prime Maca Phenotypes Grown in Two Geographically-Distant Locations. *Int J Biomed Sci* [Internet]. 2016 Mar; [citado 2020 Diciembre 18]; 12(1):9-24 Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4841986/>
18. Quispe Lupaca J. Prevalencia de *Escherichia coli* Y *Pseudomonas* sp en pacientes con infecciones prostáticas y su sensibilidad a los extractos de

- tubérculos de *Tropaeolum tuberosum* (ISAÑO), JULIACA - 2017. Universidad Nacional del Altiplano. Puno-2018. Available from: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/8233/Quispe_Lupaca_Jorge_Luis.pdf?sequence=1&isAllowed=y
19. Gutiérrez-Castrellón P, Díaz-García L, Colsa-Ranero A, Cuevas-Alpuche J, Jiménez-Escobar Y. Eficacia y seguridad de la ciprofloxacina en el tratamiento de las infecciones de las vías urinarias (IVU) en adultos: revisión sistemática con metaanálisis. *Gac Med Mex* [Internet]. 2015 [citado 2020 noviembre 10]; 151:225-44. Available from: https://www.anmm.org.mx/GMM/2015/n2/GMM_151_2015_2_225-244.pdf
 20. Marrero Escalona J, Leyva Toppes M, Castellanos Heredia J. Infección del tracto urinario y resistencia antimicrobiana en la comunidad. *Rev Cubana Med Gen Integr* [Internet]. 2015 Mar [citado 2021 Ene 29]; 31(1):78-84. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252015000100011
 21. Arias Porras J. Comparación entre ciprofloxacina y antibióticos de otros grupos farmacológicos para el tratamiento de infecciones del tracto urinario. *Edición Semestral* N°. 32, Costa Rica [Internet]. 2016 Agosto. [citado 29 Noviembre del 2019], | ISSN 1409-4568. Available from: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/enfermeria/n32/1409-4568-enfermeria-32-00104.pdf>
 22. Guevara Pérez A, Nolzco Cama D; Cancino Chávez K; Oliva Cruz C. Descontaminación microbiana de la maca (*Lepidium meyenii*) aplicando el sistema de esterilización orgánica (OSS) para preservar sus propiedades nutricionales y sensoriales. *Scientia Agropecuaria* [Internet] .Setiembre 2015. [citado Marzo 29, 2019]; 7 (1): 59 – 66. Available from: <http://www.scielo.org.pe/pdf/agro/v7n1/a06v7n1.pdf>
 23. Domínguez A. Aceites esenciales o aceites vegetales. En: *Métodos de investigación fitoquímica / Xorge Alejandro Domínguez*. México: Editorial Limusa; 1973.p. 241-256.
 24. Lock Sing O. Métodos en el estudio de productos naturales. En: *Investigación Fitoquímica/ Olga Lock Sing de Ugaz*. Perú. Tercera Edición. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2016.p:225-269.

25. Duraffourd C, Lapraz J. Tratado de Fitoterapia Clínica. En: Medicina y endobiogenia / Duraffourd, Christian y Lapraz, Jean-claude. Mexico. Editorial Pax México. 1983. P.296-220.
26. Leitáo Peres N, Cabrera Parra Bortoluzzi L, Medeiros Marques L, Formigoni M, Hernández Barros Fuchs R, Aparecida Droval A Y Reitz Cardoso F. Efectos medicinales de la maca peruana (*Lepidium meyenii*): una revisión. *Royal Society of Chemistry* [Internet]. 2020. [Citado 2020 noviembre 25]; 11, 83-92. Available from: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2020/FO/C9FO02732G#!Divaabstract>
27. Ishida M, Hara M, Fukino N, Kakizaki T, Morimitsu Y. Glucosinolate metabolism, functionality and breeding for the improvement of Brassicaceae vegetables *Breeding science* [internet] 2014. [Citado Febrero. 26.2021] 64: 48–59. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jsbbs/64/1/64_48/pdf/-char/en
28. Lock Sing O y Rojas R. Química y Farmacología de *Lepidium meyenii* Walp ("Maca"). *Revista de QUÍMICA* [Internet]. 2002 [Citado 2020 noviembre 25]; Available from: <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/18650>
29. Carvalho F, Ribeiro P. Structural diversity, biosynthetic aspects, and LC-HRMS data compilation for the identification of bioactive compounds of *Lepidium meyenii*. *ScienceDirect* [Internet] 2019. [Citado Febrero. 26.2021] 128: 108615. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996919304934?via%3Dihub>
30. Sacsquispe Contreras R, Velásquez Pomar J. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Instituto Nacional de Salud [Internet]. Lima, 2002; 18 (2): 9972 – 857. Available from: <https://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual%20sensibilidad%20202.pdf>

31. Esparza E, Hadzich A, Cosio E. La maca: la química detrás de su secado tradicional. *RevQuim* [Internet]. 1 sep. 2015 [citado 23 feb. 2021]; 29(1):11-7. Available from: <http://revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/view/12932/13521>
32. Sanchez Salazar S. Bioensayo para determinar el efecto de cuatro categorías de maca amarilla (*Lepidium meyenii*) provenientes de la localidad de Huallanca (Áncash) sobre el recuento de espermatozoides en testículo, epidídimo y conducto deferente en animales experimentales. Universidad peruana Cayetano heredia. Lima- Perú 2017. Available from: <http://repositorio.upch.edu.pe/handle/upch/674>
33. Chen Q, Meng L, Wang C, Li Z, Xu J, Zheng Q, Liu P, Zhou H. Combining targeted metabolites analysis and transcriptomics to reveal chemical composition difference and underlying transcriptional regulation in Maca (*Lepidium Meyenii* Walp.) ecotypes. *Genes* [Internet] 2018. [Citado Febrero. 26.2021]. 9, 335–352. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4425/9/7/335>
34. Patricelli P, Dell’Elce A, Weidmann C, Ramírez E, Presa R, Aguirre MS, Cadoche L, Formentini E. Actividad antibacteriana in vitro de Ciprofloxacina sobre una cepa autóctona de *Escherichia coli*: efecto del ph sobre su potencia y efecto de la persistencia bacteriana sobre su modo de acción. *Revista FAVE* [Internet]. 2017. [Citado 2021 enero 20]; 15: 38-47. Available from: <https://core.ac.uk/reader/192640420>
35. Sánchez Merino J, Guillán Maquieira C, Fuster Foz C, Madrid García F, Jiménez Rodríguez M, García Alonso J. Sensibilidad microbiana de *Escherichia coli* en infecciones urinarias extrahospitalarias. *Actas Urológicas Españolas* [Internet] 2003. [Citado Febrero. 27.2021]. 27:10, 783–787. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0210480603730149>

ANEXOS

ANEXO A: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	VALOR FINAL	CRITERIOS
Extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada) (V.I)	Cuantitativa y longitudinal	Producto obtenido de la maceración por 7 días en etanol al 70% del polvo de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada), concentrado y atomizado a 70 °C, conservado y empacado en sachets, para posteriormente ser administrado según concentraciones.	Concentración del extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii Walp</i> (maca morada).	Concentración a determinar Reconocimiento de metabolitos secundarios	Extracto atomizado en diferentes concentraciones Variedad de reactivos	25 % -50 % y 75 % No realizada (0) Ausente (-) Leve (+) moderado (++) Abundante (+++)	Escala de presencia o ausencia
Actividad Antibacteriana frente a cepa de <i>Escherichia coli</i> en estudios In Vitro (V.D)	Cuantitativa	Capacidad de una sustancia para inhibir el crecimiento o propagación de cepas bacterianas.	Sensibilidad bacteriana frente al extracto atomizado de maca morada (nombre científico) obtenida por medición del diámetro de los Halos de inhibición.	Inhibición del crecimiento bacteriano	Medición del diámetro de los Halos de inhibición (mm)	Con crecimiento Sin crecimiento	Evidencia del crecimiento bacteriano

ANEXO B: INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Tabla a: Prueba de solubilidad

N°	SOLVENTES	NOMENCLATURA	RESULTADO
1	Agua destilada	H ₂ O	
2	Etanol	Et(OH)	
3	Metanol	MeOH	
4	n-butanol	N-BuOH	
5	Acetato de etilo	Eto Ac	
6	Cloroformo	CHCl ₃	
7	Hexano	Hex	
8	Acetona	Me ₂ CO	
9	Éter etílico	Et ₂ O	
10	Éter de petróleo	EP	

LEYENDA

- La solubilidad no se visualiza (-)
- La solubilidad en menor grado (+)
- La solubilidad es moderada (++)
- La solubilidad es mayor (+++)

Tabla b: Marcha fitoquímica del extracto atomizado

N°	METABOLITO	REACTIVO DE IDENTIFICACION	REACCION POSITIVA	RESULTADO
1	Carbohidratos	Molish	Anillo violeta	
		Antrona	Coloración verde	
		Fehling	Precipitado rojo ladrillo	
2	Quinonas	NaOH al 5%	Coloración que van del amarillo pasando por el rojo hasta el violeta.	
		Bornträger	Coloración rosada a roja	
3	Taninos	Gelatina	Precipitado denso blanco	
4	Flavonoides	Shinoda	Chalconas, auronas, isoflavanoonas: No hay coloración	
			Isoflavonas: Amarillo rojizo	
			Flavanoles: Coloración roja magenta	
			Flavonas y flavonoles: Amarillo a rojo	
5	Aminoacidos libres y grupos amino	Ninhidrina	Coloracion violácea	

6	Alcaloides	Dragendorff	Precipitado naranja	
		Mayer	Precipitado blanco	
		Bertrand	Precipitado blanco	
		Sonnenschein	Precipitado amarillo verdosa	
7	Triterpenoides y esteroides	Lieberman-Burchard	Triterpenoides: rojo naranja	
			Esteroides: verde-azul	
8	Saponinas	Espuma	De 0.5 a 1 cm estable por 15 minutos	
9	Glicosidos	Baljet	Coloración anaranjada	

LEYENDA:

- No realizada (0)
- Ausente (-)
- Leve (+)
- Moderado (++)
- Abundante (+++)

Tabla c: Medidas de los halos de inhibición

EXTRACTO HIDROALCOLICO ATOMIZADO DE LEPIDIUM MEYENII WALP					
CONCENTRACIONES					
HALOS DE INHIBICION (mm)					
N° DE PLACA	Control positivo (Ciprofloxacina 5 Ug)	Control negativo (Agua estéril)	Extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii W</i> 25 mg/ml	Extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii W</i> 50 mg/ml	Extracto atomizado de <i>Lepidium meyenii W</i> 75 mg/ml
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

LEYENDA

- Nulo : menor a 8 mm
- Sensible límite: 9-14 mm
- Sensible medio: 15-19 mm

- Sensible alto: mayor a 20 mm

ANEXO C: CONSTANCIA EMITIDA POR EL BOTÁNICO DEL "SERVICIO DE ESTUDIO TAXONÓMICO, DETERMINACIÓN DE MUESTRAS BOTÁNICAS Y CERTIFICACIÓN" DE LA UNMSM

 **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
 **MUSEO DE HISTORIA NATURAL**

"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N° 307-USM-2019

LA JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tubérculos) recibida de **Carlos Marcel Navarro Ramos**, estudiante de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Lepidum meyenii* Walp.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: CAPPARALES

FAMILIA: BRASSICACEAE

GENERO: *Lepidum*

ESPECIE: *Lepidum meyenii* Walp

Nombre vulgar: "maca morada"
Determinado por Dra. Joaquina Albán Castillo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 23 de setiembre de 2019


Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



JAC/ddb

ANEXO D: CERTIFICADO DE CALIDAD DEL EXTRACTO ATOMIZADO DE LEPIDIUM MEYENII WALP (MACA MORADA)



CERTIFICADO DE CALIDAD

NOMBRE DEL PRODUCTO	:	Extracto de Maca
FECHA DE PRODUCCION	:	07-05-15
FECHA DE EXPIRACION	:	Mayo 2017
LOTE	:	100755
FECHA EMISION	:	11 -09- 15

ANALISIS BROMATOLOGICO

Carbohidratos (B.S.)	88,10%
Grasas (B.S.)	1,05%
Proteínas (B.S.)	6,79%
Cenizas (B.S.)	2,06%
PH	5,50

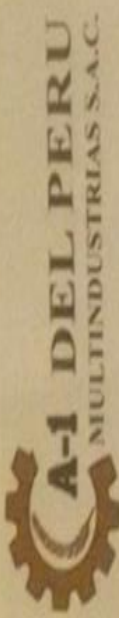
Referencia : Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemist (AOAC)

ANALISIS MICROBIOLOGICO

Recuento Total	< 10 ⁵ UFC/gr.
Hongos y Levaduras	< 100 UFC/gr.
Coliformes Fecales	Ausente
Staphylococcus aureus	Ausente
Salmonella	Ausente

Referencia : Farmacopea USP XXIII

ANEXO E: CONSTANCIA DE FACTURA DEL SERVICIO DE LA EMPRESA A1 DEL PERU MULTINDUSTRIAS S.A.C.



A-1 DEL PERU
MULTINDUSTRIAS S.A.C.

Av. Jorge Chavez 1058, Surco, Lima Peru
Tel: 4772385
Fax: 4776510

Fecha Cotizacion: 3/06/2019
100-41-19

Cliente: Carlos Navarro Ramos


Descripción	S/.	U.	Cant.	S/.
Prueba de Extracto Atomizado de Marca Morada (30kg)	S/.	825.00	1.00	S/.
SERVICIO DE EXTRACTO ATOMIZADO (100kg)	S/.	12.50	100.00	S/.
Servicio de extracto atomizado de marca morada	S/.	2.27	432.00	S/.
Alcohol usado	S/.			2.230.64
SERVICIO DE EXTRACTO ATOMIZADO (500kg)	S/.	12.50	500.00	S/.
Servicio de extracto atomizado de marca morada	S/.	2.27	2.160.00	S/.
Alcohol usado	S/.			6.250.00
SERVICIO DE EXTRACTO ATOMIZADO (1000kg)	S/.	12.50	1.000.00	S/.
Servicio de extracto atomizado de marca morada	S/.	2.27	4.320.00	S/.
Alcohol usado	S/.			11.153.20
TOTAL	S/.			22.306.40

PRECIOS NO INCLUYEN IGV

Observaciones:
El cliente proporciona la materia prima (marca morada)
El producto sera entregado en bolsas de 25kg


Terminos y Condiciones:
Formas de Pago:
100% al realizar el pedido
La cotizacion tiene una validez de 30 dias

Saludos




Ricardo Viera Gomez
Jefe de Produccion
0051-1-4311693
4772385 - 105
941431693

**ANEXO F: CERTIFICADO DE CALIDAD DE LAS CEPAS ESCHERICHIA COLI.
(ATCC® 25922™)**



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>Specifications Microorganism Name: Escherichia coli Catalog Number: 0335 Lot Number: 335-211 Reference Number: ATCC® 25922™ Purity: Pure Passage from Reference: 3</p>	<p>Expiration Date: 2018/8/31 Release Information: Quality Control Technologist: Tracy A Benker Release Date: 2016/10/13</p>
--	---

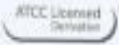
Performance	
<p>Macroscopic Features: 2 colony types, both are gray & beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge & smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge & rough</p> <p>Microscopic Features: Gram negative straight rod</p> <p>ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.</p>	<p>Medium: SSAP</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p> <p>Other Features/ Challenges: Results (1) Oxidase (Kovacs): negative Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/NAUG): positive (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 20 mm (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>

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 Users: Although the Vitek® panel uses ready-to-use conventional tests, the unique architecture 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 responsibility information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(1) The ATCC Licensed Derivative Program, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC quality marks are trademarks of ATCC Microbiology, Inc. or licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

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



TESTING CERT #2655-01

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303 Page 1 of 1 DOC-286

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Description	Symbols	Color
2.500 ... 3.000	highly probable species identification	(+++)	green
2.000 ... 2.299	secure genus identification, probable species identification	(**)	green
1.700 ... 1.999	probable genus identification	(*)	yellow
0.000 ... 1.699	not reliable identification	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Description
A	Species Consistency: The best match was classified as 'green' (see above). Further 'green' matches are of the same species as the first one. Further 'yellow' matches are at least of the same genus as the first one.
B	Genus Consistency: The best match was classified as 'green' or 'yellow' (see above). Further 'green' or 'yellow' matches have at least the same genus as the first one. The conditions of species consistency are not fulfilled.
C	No Consistency: Neither species nor genus consistency (Please check for synonyms of names or microbial mixture).

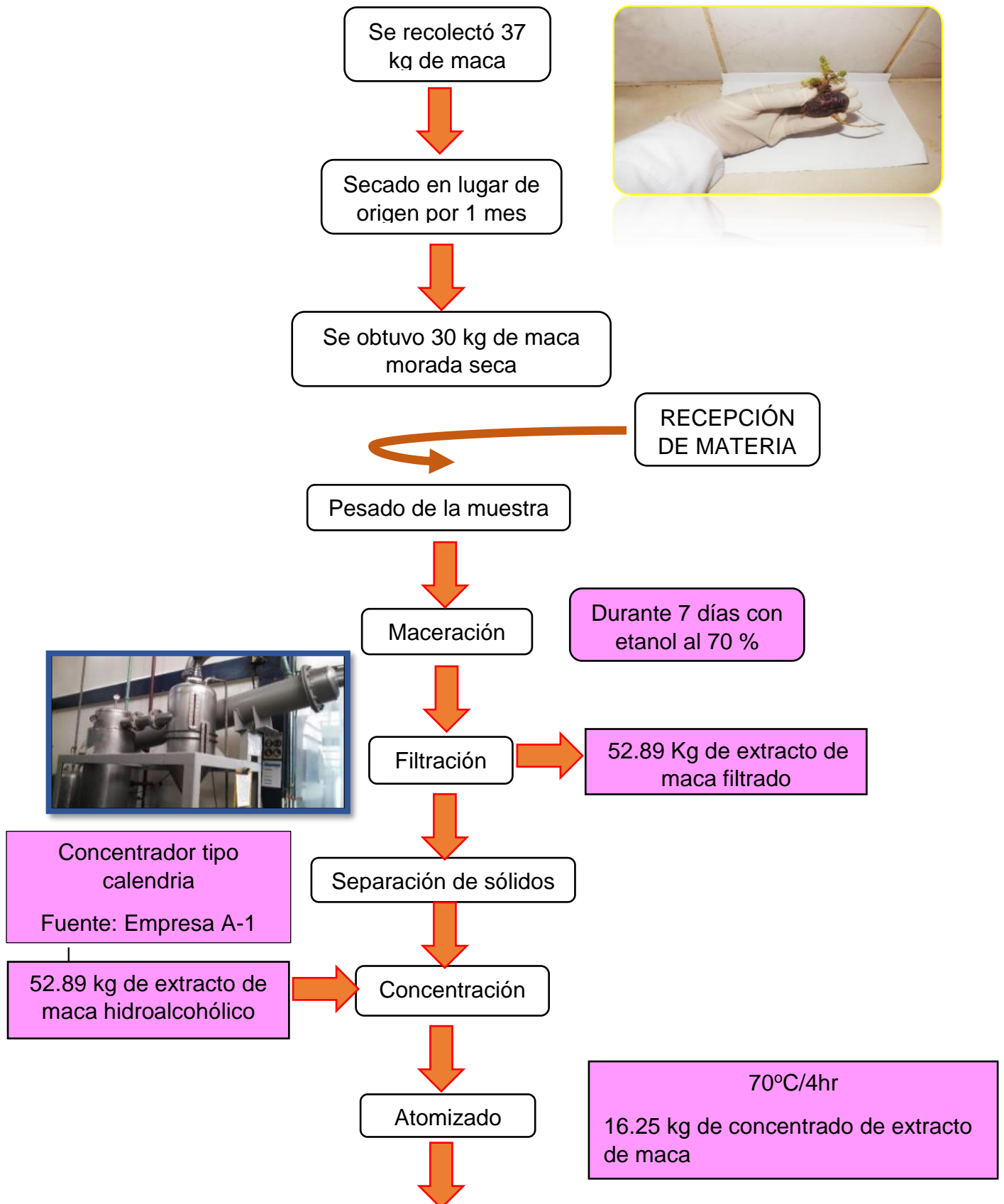
Analyte Name: *Escherichia coli*
 Analyte Description: 0335
 Analyte ID: 335-211
 Analyte Creation Date/Time: 2016-10-05T14:44:12.278 TB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, N/D, Listeria
 Applied Taxonomy Tree:

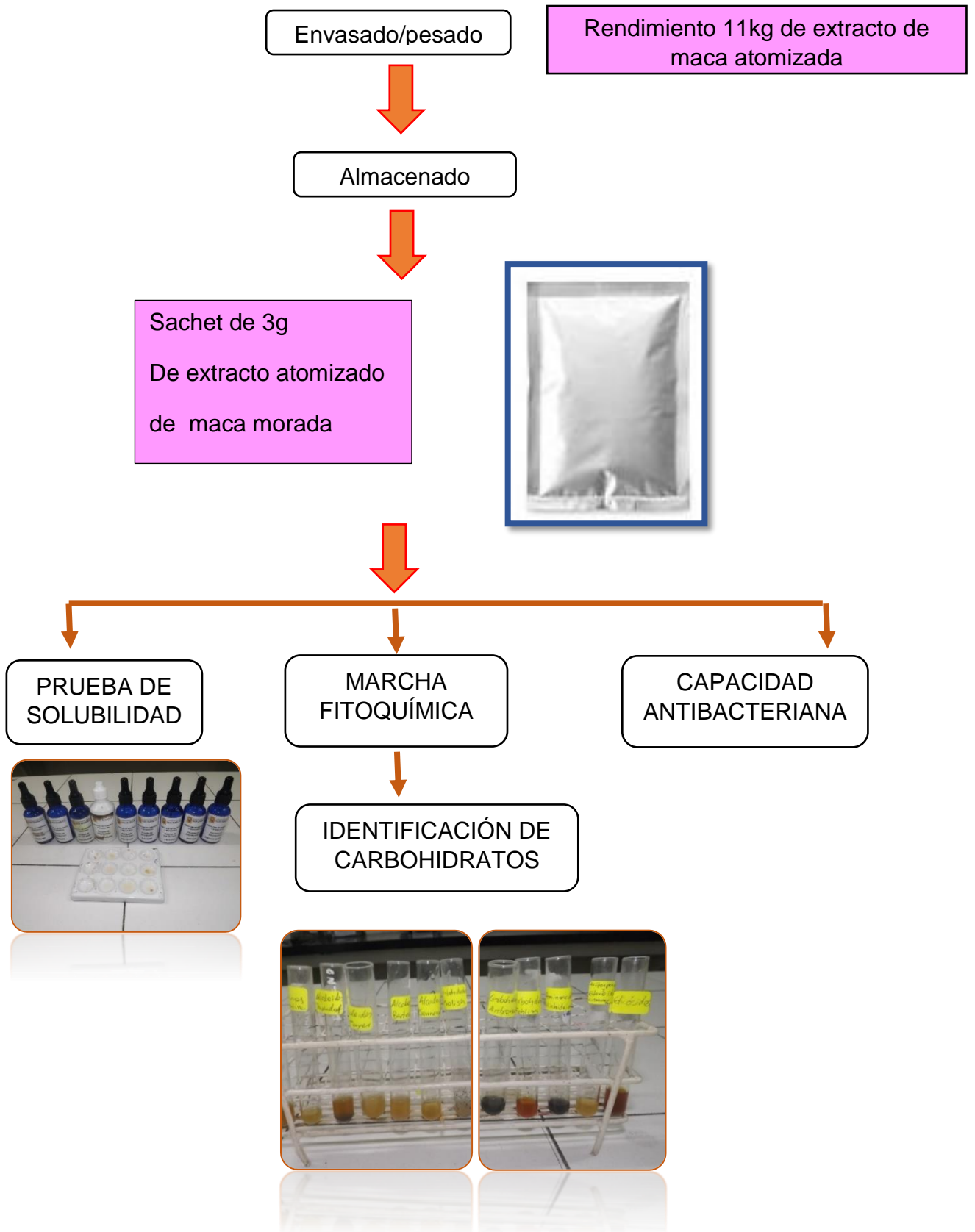
Analyte Name	Analyte ID	Organism (best match)	Score Value
Q (+ + +) (A)	335-211	<i>Escherichia coli</i>	2.575

Comments:

closely related to *Shigella* and not definitely distinguishable at the moment

ANEXO G: DIAGRAMA DE FLUJO DE LA PREPARACION Y OBTENCION DEL EXTRACTO ATOMIZADO DE LEPIDIUM MEYENII WALP (MACA MORADA).





ANEXO H: EVIDENCIAS FOTOGRÁFICAS DEL TRABAJO DE CAMPO

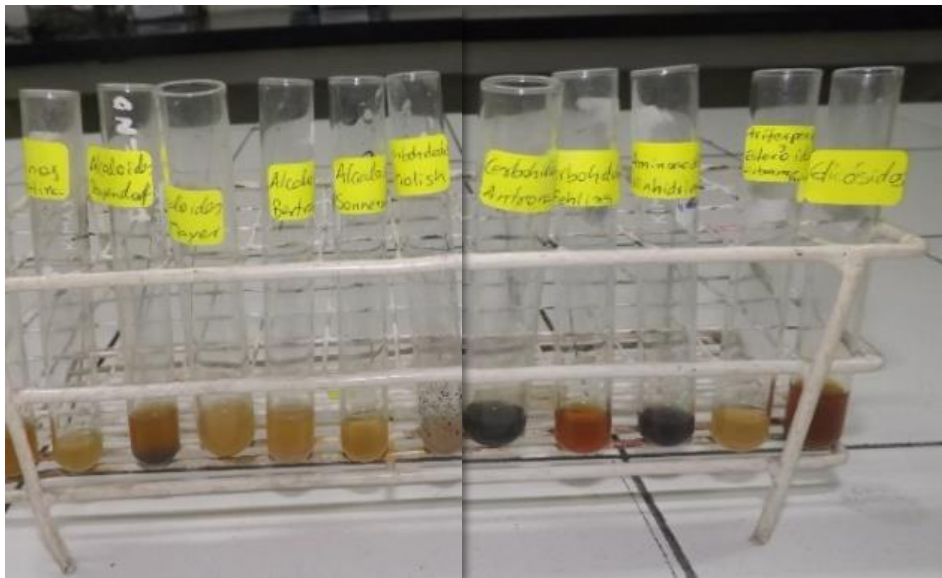


Figura a: Marcha fitoquímica: reactivos y reconocimiento de metabolitos secundarios presentes en *Lepidium meyenii* Walp (maca morada)

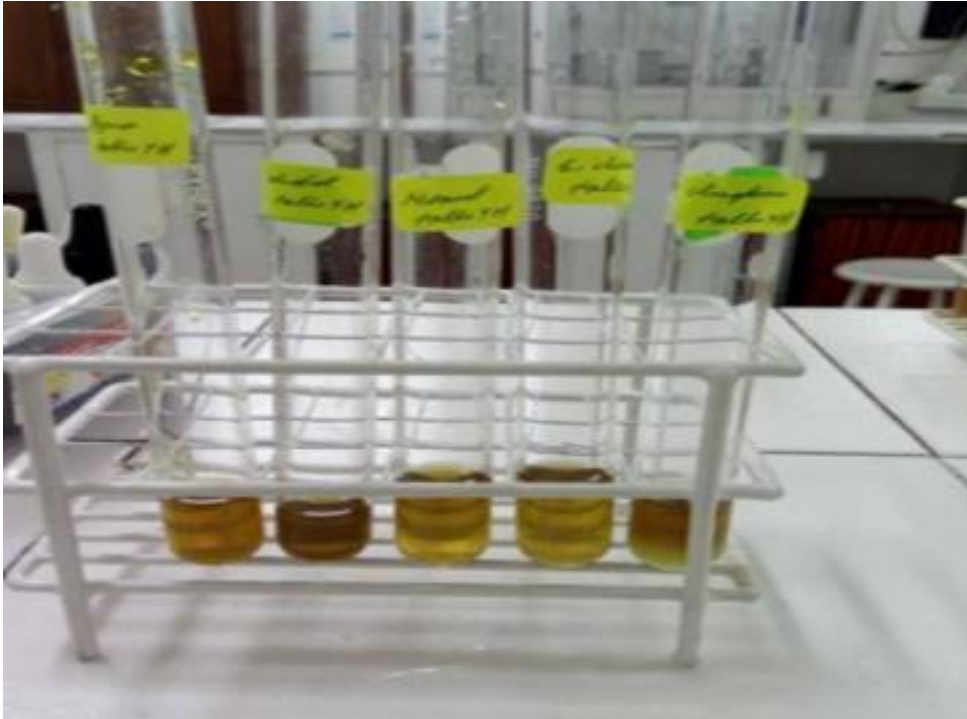


Figura b: Prueba de solubilidad



Figura c: Preparación del estándar (0,5 mc. farland) para el inóculo, obtenido de una casa comercial y su comparación de homogenización de la turbidez con el estándar de Mc Farland.

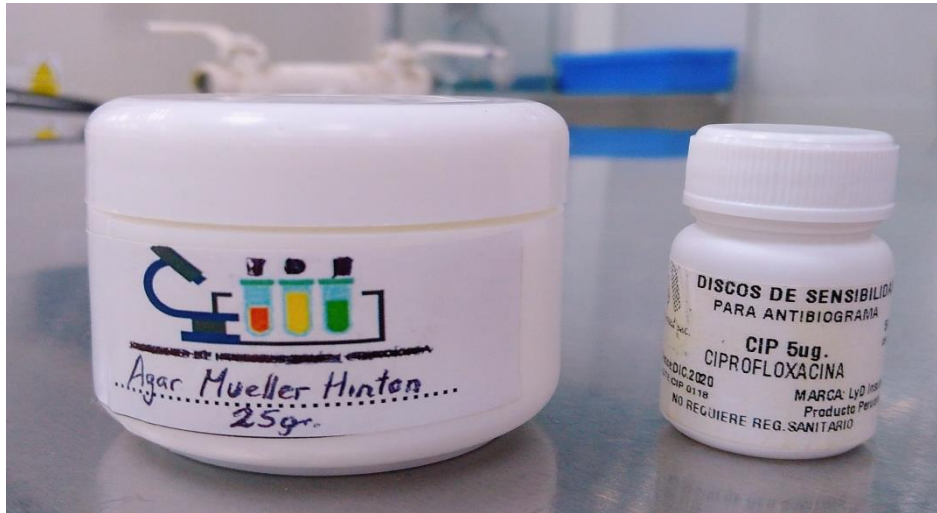


Figura d: Evaluación de la capacidad antibacteriana del extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada): Discos de sensibilidad LyD Insumed. SAC del antibiótico ciprofloxacina (5 ug) y medio de cultivo Agar Mueller Hinton.



Figura e: *Escherichia coli* (ATCC® 25922™) adquirida del Laboratorio Genlab.



Figura f: Preparación del medio de cultivo de Agar Mueller Hinton



Figura g: Perforación de la placa para la aplicación de los discos de sensibilidad de ciprofloxacina.

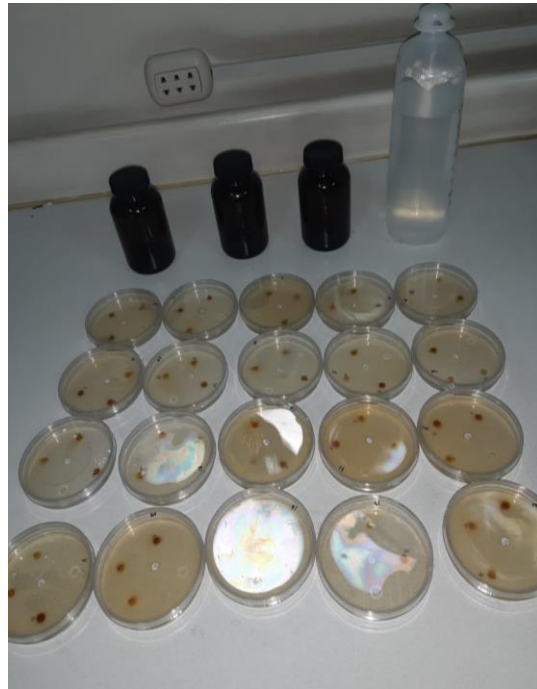
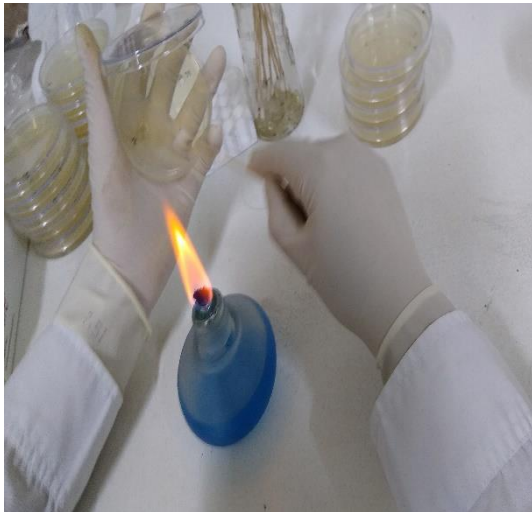


Figura h: Sembrado del inóculo bacteriano en Agar Müller Hinton, donde se utilizaron 5 grupos: control positivo, control negativo, extracto atomizado de *Lepidium meyenii Walp* (maca morada) al 75%, 50% y 25%.



Figura i: Incubación a 37 °C por un periodo de 24 horas.

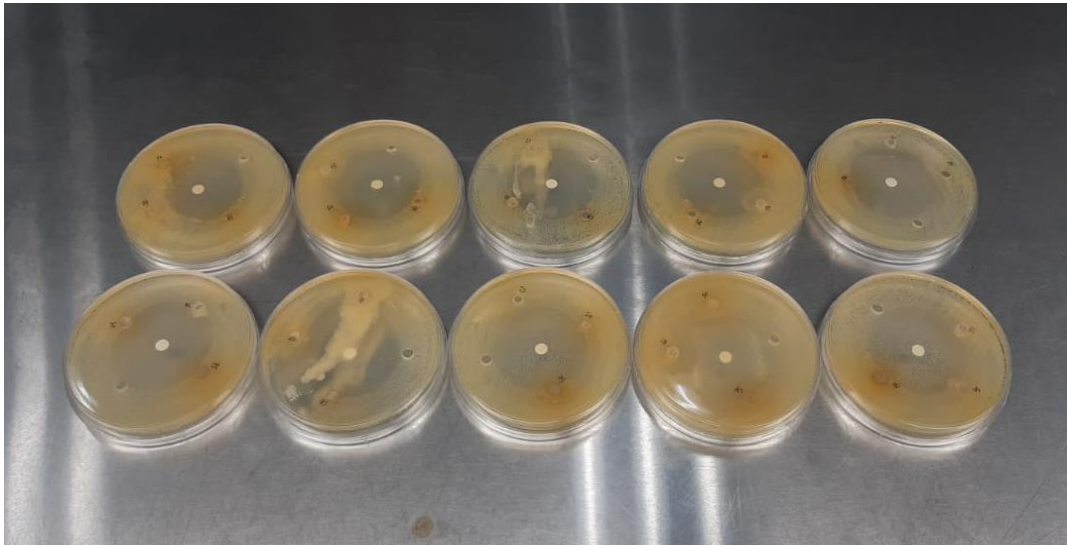


Figura j: Resultados y medición de los halos de inhibición del extracto atomizado de *Lepidium meyenii* Walp (maca morada) frente las cepas de *Escherichia coli*

