

# Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

#### TESIS:

# "ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maria)"

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACEÚTICO

BACHILLER: ATENCIO PACO, Cristina María

ASESOR: Blga. MSc. MALLQUI BRITO, Ethel Vania

LIMA, PERÚ 2016

#### DEDICATORIA

Dedico esta tesis, a mi familia por estar conmigo en todo momento; por su constante cooperación en los momentos más difíciles.

#### AGRADECIMIENTO

Agradezco a la M.Sc. Vania E. Mallqui Brito por su amplia generosidad, a la Lic. Silvia Valdez Delgado por su gran aporte a esta investigación y a la M.Sc. Gloria E. Tomás Chota por hacer posible la presente investigación.

#### RESUMEN

Ante el incremento uso de productos naturales nivel mundial. En el Perú, Madre de Dios, tiene gran aceptación de productos fitoterapéuticos. Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo general determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de plantas nativas procedentes de Madre de Dios: Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria), frente a cepas patógenas ATCC. Para la obtención del extracto vegetal se utilizó etanol de 96º a temperatura ambiente y para determinar la actividad antimicrobiana se empleó el método de difusión en agar por discos. El resultado de la investigación revela que el extracto etanólico de *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maria) presentaron actividad antimicrobiana frente a microorganismos patógenos ATCC. Respecto al extracto etanólico de Artocarpus altilis presentó actividad antimicrobiana frente a Escherichia coli ATCC 25922 con un promedio de 10mm de halo de inhibición, frente al Staphylococcus aureus ATCC 25923 con 16mm de halo y frente a la Salmonella enteritidis ATCC 13076 con de 9mm de halo de inhibición. Mostrando mayor actividad antibacteriana frente a Staphylococcus aureus ATCC 25923 con 16mm de halo de inhibición y menor actividad para el resto de patógenos bacterianos. En cuanto al extracto etanólico de Piper peltatum presentó actividad antimicrobiana frente a Escherichia coli ATCC 25922 con un promedio de 8mm de halo de inhibición, frente al Staphylococcus aureus ATCC 25923 con 9mm de halo y frente a la Salmonella enteritidis ATCC 13076 con 9mm de halo de inhibición. Mostrando menor actividad antibacteriana frente a todas las cepas patógenas. Se concluye que el extracto etanólico de Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria) presentaron actividad antimicrobiana frente a las cepas patógenas ATCC.

Palabras claves: *Artocarpus altilis, Piper peltatum*, extracto etanólico, actividad antimicrobiana.

#### **ABSTRAC**

Given the increased use of natural products worldwide. In Peru, Madre de Dios, he has great acceptance of phytotherapy products. That is why this study has the general objective to determine the antimicrobial activity of ethanol extract of native plants from Mother of God: breadfruit (bread tree) and Piper peltatum (santa maria), against pathogenic strains ATCC. 96° ethanol at room temperature was used for obtaining the plant extract and to determine the antimicrobial activity diffusion method was used on agar discs. The result of the research reveals that the ethanol extract of breadfruit (bread tree) and *Piper peltatum* (santa maria) showed antimicrobial activity against pathogenic microorganisms ATCC. Regarding the ethanolic extract breadfruit (bread tree) showed antimicrobial activity against Escherichia coli ATCC 25922 with an average of 10 mm zone of inhibition versus Staphylococcus aureus ATCC 25923 with 16mm halo and against Salmonella enteritidis ATCC 13076 with 9 mm zone of inhibition. Showing higher antibacterial activity against Staphylococcus aureus ATCC 25923 with inhibition halo 16mm and less activity for the other bacterial pathogens. As for the ethanolic extract of Piper peltatum (Santa Maria) he showed antimicrobial activity against Escherichia coli ATCC 25922 with an average of 8mm zone of inhibition versus Staphylococcus aureus ATCC 25923 with 9mm halo and against Salmonella enteritidis ATCC 13076 with 9 mm zone of inhibition. Showing lower antibacterial activity against all pathogenic strains. It is concluded that the ethanol extract of breadfruit (bread tree) and Piper peltatum (santa maria) showed antimicrobial activity against pathogenic strains ATCC.

Keywords: breadfruit, *Piper peltatum*, ethanol extract, antimicrobial activity.

# ÍNDICE

| CAR              | ÁTULA                                   |      |
|------------------|---|------|
| DED              | ICATORIA                                | II   |
| AGR.             | ADECIMIENTO                             | III  |
| RES              | UMEN                                    | IV   |
| ABS <sup>-</sup> | TRAC                                    | V    |
| ÍNDIO            | CE DE CUADROS                           | XI   |
| ÍNDIO            | CE DE GRÁFICOS                          | XII  |
| INTR             | RODUCCIÓN                               | XIII |
| CAP              | ÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA     | 14   |
| 1.1              | Descripción de la Realidad Problemática | 14   |
| 1.2              | Formulación del Problema                | 15   |
|                  | 1.2.1 Problema Principal                | 15   |
|                  | 1.2.2 Problemas Específicos             | 15   |
| 1.3              | Objetivos de la Investigación           | 15   |
|                  | 1.3.1 Objetivo General                  | 15   |
|                  | 1.3.2 Objetivos Específicos             | 16   |
| 1.4              | Hipótesis de la Investigación           | 16   |
|                  |   |      |

|      | 1.4.1   | Hipótesis General                         | .16 |
|------|---------|---|-----|
|      | 1.4.2   | Hipótesis Específicas                     | 16  |
| 1.5  | Justifi | icación e Importancia de la Investigación | .17 |
|      | 1.5.1   | Justificación                             | .17 |
|      | 1.5.2   | Importancia                               | 18  |
| CAPÍ | TULO    | II: MARCO TEÓRICO                         | 19  |
| 2.1  | Antec   | edentes de la Investigación               | .19 |
|      | 2.1.1   | Antecedentes Nacionales                   | .19 |
|      | 2.1.2   | Antecedentes Internacionales              | 19  |
| 2.2  | Bases   | s Teóricas                                | .21 |
|      | 2.2.1   | Plantas Medicinales                       | .21 |
|      | 2.2.2   | Artocarpus altilis (pan de árbol)         | 22  |
|      |         | 2.2.2.1 Generalidades                     | .22 |
|      |         | 2.2.2.2 Descripción Botánica              | .22 |
|      |         | 2.2.2.3 Clasificación Taxonómica          | 23  |
|      |         | 2.2.2.4 Fitoquímica                       | 24  |
|      |         | 2.2.2.5 Usos Medicinales                  | 24  |
|      | 2.2.3   | Piper peltatum (santa maria)              | .25 |
|      |         |   |     |

VII

|       | 2.2.3.1 Generalidades29                                | 5 |
|-------|--|---|
|       | 2.2.3.2 Descripción Botánica25                         | 5 |
|       | 2.2.3.3 Clasificación Taxonómica2                      | 7 |
|       | 2.2.3.4 Fitoquímica2                                   | 7 |
|       | 2.2.3.5 Usos Medicinales                               | 3 |
| 2.2.4 | Extracto del Principio Activo del Vegetal28            | 3 |
|       | 2.2.4.1 Definición                                     | 3 |
|       | 2.2.4.2 Extracción con Disolventes30                   | 0 |
| 2.2.5 | Métodos de Estudios de la Sensibilidad Antimicrobiana3 | 1 |
|       | 2.2.5.1 Generalidades3                                 | 1 |
|       | 2.2.5.2 Estandarización32                              | 2 |
|       | 2.2.5.3 Método de Disco Difusión33                     | 3 |
| 2.2.6 | Escherichia coli34                                     | 1 |
|       | 2.2.6.1 Generalidades34                                | 1 |
|       | 2.2.6.2 Clasificación35                                | ; |
|       | 2.2.6.3 Epidemiología35                                | 5 |
| 2.2.7 | Staphylococcus aureus35                                | 5 |
|       | 2.2.7.1 Generalidades35                                | 5 |
|       | 2.2.7.2 Epidemiología36                                | 3 |
| 2.2.8 | Salmonella enteritidis3                                | 7 |
|       | 2.2.8.1 Generalidades                                  | 7 |
|       | VII  |   |

|     | 2.2.8.2 Epidemiología                              | 37 |
|-----|--|----|
| 2.3 | Definición de Términos Básicos                     | 38 |
|     | CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN      | 38 |
| 3.1 | Tipo de Investigación                              | 38 |
|     | 3.1.1 Métodos                                      | 39 |
|     | 3.1.2 Técnicas                                     | 40 |
|     | 3.1.2.1 Técnica de extracción del vegetal          | 40 |
|     | 3.1.2.2 Técnica de Difusión en Placa               | 43 |
|     | 3.1.3 Diseño                                       | 48 |
| 3.2 | Población y Muestra                                | 48 |
|     | 3.2.1 Población                                    | 48 |
|     | 3.2.2 Muestra                                      | 49 |
| 3.3 | Variables e Indicadores                            | 49 |
|     | 3.3.1 Variable Independiente                       | 49 |
|     | 3.3.2 Variable Dependiente                         | 49 |
| 3.4 | Técnicas e Instrumentos en la Recolección de Datos | 49 |
|     | 3.4.1 Técnicas                                     | 49 |
|     | 3.4.2 Instrumentos                                 | 50 |

9

IX

| CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE |    |  |  |  |  |
|---|----|--|--|--|--|
| RESULTADOS51  |    |  |  |  |  |
| 4.1 Resultados  | 51 |  |  |  |  |
| 4.2 Análisis e Interpretación de Resultados             | 56 |  |  |  |  |
| DISCUSIÓN   | 57 |  |  |  |  |
| CONCLUSIONES  | 59 |  |  |  |  |
| RECOMENDACIONES   | 60 |  |  |  |  |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS                              | 61 |  |  |  |  |
| ANEXOS  | 66 |  |  |  |  |

## **ÍNDICE DE CUADROS**

| CUADRO     | N°1     | Actividad | antim   | icrobiar | na del   | extracto   | etanólico  | de    |
|------------|---------|-----------|---------|----------|----------|------------|------------|-------|
| Artocarpus | altilis | (pan de   | árbol)  | frente   | a micr   | oorganism  | nos patóge | nos   |
| ATCC       |         |           |         |          |          |            |            | 51    |
|            |         |           |         |          |          |            |            |       |
| CUADRO     | N° 2 /  | Actividad | antimic | robiana  | del exti | racto etan | ólico de P | 'iper |
| peltatum   | (santa  | maria)    | frente  | e a      | micro    | organismo  | s patóge   | nos   |
| ATCC       |         |           |         |          |          |            |            | 52    |

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

| GRÁFICO    | Nº 1    | Diáme | etro del | halo de          | inhibición | del e  | xtracto | etanólico  |
|------------|---------|-------|----------|------------------|------------|--------|---------|------------|
| Artocarpus | altilis | (pan  | de árbo  | l) y <i>Pipe</i> | r peltatum | (santa | maria   | ) frente a |
| cepas      |         |       |          |                  |            |        |         |            |
| patógenas. |         |       |          |                  |            |        |         | 54         |

#### INTRODUCCIÓN

En el Perú la riqueza de las plantas medicinales, es muy amplia y está enmarcada dentro de más de 4400 especies de usos por las poblaciones locales, la flora amazónica peruana constituye una de las mayores reservas de recursos fitoterapéuticos. La medicina tradicional, una de las expresiones más importantes de la memoria ancestral de los pueblos hace uso, entre otras prácticas, de un gran número de especies vegetales, las cuales han sido estudiadas, obteniéndose de ellas importantes compuestos biológicamente activos que han contribuído a aliviar las dolencias de la humanidad (1). El conocimiento de las propiedades medicinales de las plantas está basado en la observación, la experiencia y el conocimiento profundo del entorno, transmitido de generación en generación y enriquecido por la integración cultural de la población nativa y migrante. Estos conocimientos, debidamente sistematizados, deben contribuir a resolver, en parte, los problemas de salud de la población menos favorecida y más alejada de la modernidad, cuyas posibilidades de curarse son, actualmente, limitadas por el alto costo de los fármacos modernos (2).

El objetivo del presente estudio pretende determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las plantas nativas procedentes de Madre de Dios: *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maria), frente a cepas patógenas: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

#### **CAPÍTULO I**

#### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Descripción de la Realidad Problemática.

Desde tiempos muy remotos las plantas han cumplido un papel importante en el área terapéutica gracias a las múltiples propiedades que poseen. Por esta razón en las últimas décadas, su estudio ha adquirido mayor importancia, para desarrollar nuevas técnicas que permitan la determinación e identificación de principios activos contenidos en la especie vegetal. La finalidad es contribuir con nuevas terapias alternativas de origen natural. En el Perú, Madre de Dios, provincia de Tambopata con una altitud de 183 msnm, presenta diversos ecosistemas y alberga algunas de las regiones de mayor biodiversidad a nivel mundial en flora, presentando variedades de plantas con fines fitoterapéuticos que han demostrado con el tiempo gran efectividad en el uso popular (3), como es el caso del Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria), empleadas frecuentemente en afecciones de la piel con el objeto de contrarrestar agentes bacterianos; Sin embargo no existen estudios validados científicamente que puedan demostrar dicha propiedad. Por tal razón el presente trabajo de investigación pretende determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico del Artocarpus altilis (Pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria) procedentes de Madre de Dios frente a cepas patógenas tales como: Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076.

#### 1.2 Formulación del Problema.

#### 1.2.1 Problema Principal.

¿El extracto etanólico de *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maria) procedentes de Madre de Dios presenta actividad antimicrobiana frente a cepas patógenas ATCC, julio- octubre 2016?

#### 1.2.2 Problemas Específicos.

P.E.1 ¿El extracto etanólico de la planta nativa *Artocarpus* altilis (pan de árbol) presenta actividad antimicrobiana frente a cepas patógenas: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076?

P.E.2 ¿El extracto etanólico de la planta nativa *Piper peltatum* (santa maria) presenta actividad antimicrobiana frente a cepas patógenas: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076?

#### 1.3 Objetivos de la Investigación.

#### 1.3.1 Objetivo General.

Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maría) procedentes de Madre de Dios frente a cepas patógenas ATCC, julio -octubre 2016.

#### 1.3.2 Objetivos Específicos.

O.E.1 Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de la planta nativa *Artocarpus altilis* (pan de árbol) frente a *cepas* patógenas tales como: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

O.E.2 Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Piper peltatum* (santa maria) frente a cepas patógenas: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

#### 1.4 Hipótesis de la Investigación.

#### 1.4.1 Hipótesis General

El extracto etanólico de *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maria) procedentes de Madre de Dios presentarían actividad antimicrobiana frente a cepas patógenas ATCC, julio -octubre 2016.

#### 1.4.2 Hipótesis Específicas.

H.E.1 El extracto etanólico de la planta nativa *Artocarpus altilis* (pan de árbol) presentaría actividad antimicrobiana frente a cepas patógenas como: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

H.E.2 El extracto etanólico de la planta nativa *Piper peltatum* (santa maria) presentaría actividad antimicrobiana frente a

cepas patógenas como: Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076.

#### 1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.

#### 1.5.1 Justificación

Los extractos de plantas se ha usado desde la antigüedad para el tratamiento de distintas enfermedades, en los últimos años se ha renovado el interés por lo natural y lo orgánico, esto ha propiciado el resurgimiento del uso de extractos naturales generando nuevas líneas de investigación y es de nuestro interés conocer las propiedades terapéuticas antibacterianas de éstas plantas medicinales para validar su uso popular y contribuir con una alternativa de medicina natural. Consideramos que es de suma urgencia recuperar y validar el uso de las plantas medicinales, ampliar los conocimientos, conservar las especies y promover su cultivo, de modo, que el legado cultural de los pueblos como Tambopata-Madre de Dios, continúe creciendo y beneficie a quienes por siglos han acumulado y conservado estos saberes. Este trabajo de investigación pretende demostrar que el extracto etanólico de plantas nativas Artocarpus altilis (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maria) procedentes de Madre de Dios presentarían actividad antimicrobiana frente a cepas patógenas como: Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076.

#### 1.5.2 Importancia

En Perú, Madre de Dios, presenta una gran biodiversidad de plantas, muchas de las cuales la creencia popular y ancestral las acepta como terapéuticas, basadas solamente en el conocimiento empírico, es por ello, que consideramos propiedades importante conocer sus fitoterapéuticas validadas científicamente. Por tal motivo, este trabajo pretende demostrar si el extracto etanólico de las plantas nativas procedentes de Madre de Dios, Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria) presentan actividad antimicrobiana frente a cepas patógenas tales como: Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076.

#### CAPÍTULO II

#### **MARCO TEÓRICO**

#### 2.1 Antecedentes de la Investigación

#### 2.1.1 Antecedentes Nacionales

Ruiz Q. J.; Roque M. (2009) **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE CUATRO PLANTAS DEL NOR-ORIENTE PERUANO**, este estudio señala que entre los extractos de plantas que mostraron actividad antimicrobiana significativa se encuentra el extracto hidroalcohólico de *Piper lineatum* y las especies más susceptibles fueron: *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*(4).

#### 2.1.2 Antecedentes Internacionales

Medina Medina M. (2014) EVALUACIÓN ANTIMICROBIANA Y AISLAMIENTO DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE LA ESPECIE Artocarpus altilis (pan de árbol) DE LA PROVINCIA DE ZAMORA CHICHIPE, esta investigación señala que los extractos de las hojas muestran para Staphylococcus aureus una actividad: buena (CH2CL2: 62,5µg/ml), moderada (AcOEt: 500µg/ml), y moderada (MeOH: 125µg/ml). De la columna cromatografica de latex se identificaron: dos metabolitos secundarios: ácido hexadecanoico y el ácido hexanodioico, ester de dioctilo; una mezcla de triterpenos y una de sesquiterpenos, del extracto de hojas de AcOEt desclorofilado se aisló el heptacosano(5).

Cavalcante G.; Lima Neto J.F.; Omena Bomfim E.; Floria Santos M.J. (2013) ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE Artocarpus heterophyllus EN EL DESARROLLO DE Streptococcus pneumoniae y Escherichia coli, se demostró que las especies bacterianas Escherichia coli (ATCC 25922) fue resistente al extracto hidroalcohólico de la corteza de Artocarpus heterophyllus (6).

Vidal Espinoza D. (2013)AISLAMIENTO, Y ACTIVIDAD CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA METABOLITOS SECUNDARIOS A PARTIR DE ESPECIE Piper peltatum, en la presente investigación se determinó que los extractos total en AcOEt y extracto desclorofilado de Piper peltatum únicamente presentaron bacterias grampositivas. A partir del actividad frente a extracto de Piper peltatum se aisló la flavona 5-Hydroxy-4',7dimethoxy-flavona y una mezcla de esteroles: β-sitosterol, estigmasta-5,22-dien-3-ol y campesterol. La actividad biológica del extracto en fue evaluado contra cepas de bacterias usando el método microdilución en caldo. valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto total en AcOEt fueron de 125ug/ml contra Staphylococcus aureus (7).

Pino Benitez N. (2008) ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA A PARTIR DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE SEIS ESPECIES DEL GENERO *Piper piperácea*, en esta investigación se manifiesta que todas las especies muestran algún tipo de actividad con concentraciones de 40mg/mL contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, excepto *Piper tuberculatum* (8)

#### 2.2 Bases Teóricas

#### 2.2.1 Plantas Medicinales

Las plantas medicinales contienen múltiples componentes químicos que se pueden tipificar como activos porque provocan diversos efectos o respuestas en el organismo. la actividad deriva de las combinaciones químicas presentes en la planta en su forma natural. Actualmente, a pesar del gran desarrollo alcanzado por la síntesis química, las plantas medicinales continúan siendo una fuente invaluable de nuevas moléculas biológicamente activas utilizadas en la prevención y el tratamiento de las más diversas afecciones y enfermedades (9). Del metabolismo de las plantas se obtienen moléculas conocidas como metabolitos, estos metabolitos pueden ser primarios y secundarios. Los metabolitos primarios, tales como los carbohidratos, lípidos y aminoácidos son vitales para el funcionamiento de las plantas y son de menor interés farmacológico a partir de los metabolitos primarios se forman los metabolitos secundarios que son conocidos como principios activos que ejercen funciones secundarias en las plantas, con mayor interés farmacológico; se sintetizan en pequeñas cantidades su producción es limitada para determinados géneros de familias o especies, entre plantas. los metabolitos secundarios se encuentran los triterpenos, sesquiterpenos, cumarinas, hidrocarburo alifáticos, flavonoides, esteroides, glicósidos, azúcares modificados, ácidos urónicos, heparina, alcaloides, taninos, fenil propanos, policétidos, esteroides, triterpenos, tetrapirroles y alcaloides imperfectos(10).

#### 2.2.2 Artocarpus altilis (pan de árbol)

#### 2.2.2.1 Generalidades

Es una especie perteneciente al género familia moraceae con cientos de los Artocarpus. variedades de árboles distribuidas desde el sudeste asiático (Filipinas, Indonesia), hasta la Polinesia, pasando por Oceanía. La acción antrópica ha distribuido la especie todas por las áreas tropicales del planeta, especialmente la zona de las Antillas. La especie más conocida es la Artocarpus altilis, o pan de árbol propiamente dicho. Esta especie, junto con el árbol de Jack (Artocarpus heterophyllus) son las más cultivadas del género a nivel mundial (11).

#### 2.2.2.2 Descripción Botánica

El pan de árbol puede llegar a alturas considerables, como los 21m en plena madurez, comúnmente mide 15m de alto. Sus raíces laterales son extensas, hasta de 150m de largo. El tronco puede tener un diámetro máximo de 2m. Un látex lechoso blanco está presente por todo el árbol, se trata de un árbol monoico (dos sexos en la misma planta) en el que las flores masculinas aparecen primero, las hojas miden entre 15 y 60cm de largo, son perennes, pecioladas y pinnatinervias pinnatipartidas estipuladas, ٧ (normalmente con siete lóbulos) de color verde oscuro o verde amarillento; las hojas jóvenes tienen menos lóbulos que las maduras. La larga y gran hoja del árbol se ha usado siempre en el pacífico como contenedor de alimento al ser ingerido por los humanos (12) (figura  $N^{\circ}$  1).

FIGURA Nº 1 Hoja de Artocarpus altilis



Fuente: Autora 2016

#### 2.2.2.3 Clasificación Taxonómica

Domino: Eukaryota

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Moraceae

Género: Artocarpus

Especie: Artocarpus altilis

Nombre

Vulgar: Pan de árbol

#### 2.2.2.4 Fitoquímica

El fruto del pan de árbol (Artocarpus altilis) contiene aproximadamente 25% de carbohidratos y 70% de agua. Tiene una cantidad promedio de vitamina C (20mg/100g), pequeñas cantidades de minerales (potasio y zinc) y tiamina (100µg/100g). Estudios realizados muestran que las hojas del Artocarpus altilis presentan metabolitos secundarios tales como: ácido hexadecanoico, ácido hexanodioico, éster de dioctilo, triterpenos, sesquiterpenos, heptacosano, hidrocarburo alifáticos (5). Otros estudios fitoquímicos realizados en la especie Artocarpus nobilis han detectado la presencia de flavonoides (artonina, artobiloxantona, artoindonesianinas, ciclocomunol y multiflorinas) y xantonoides en la corteza de su raíz, compuestos fenólicos geranilados en sus frutos. En sus hojas se han encontrado triterpenos (acetato de lupeol, acetato de β-amirina y ácido zizfursólico). Las plantas de este género tienen varias aplicaciones etnofarmacéuticas (13).

#### 2.2.2.5 Usos Medicinales

El uso ancestral de las especies de *Artocarpus altilis* ha sido reportado en el sureste asiático, de donde es originario, así como en el Caribe. Las partes utilizadas son los frutos, raíces, hojas, tallos, brotes y la corteza. Los usos tradicionales incluyen el tratamiento de úlceras, abscesos y diarrea, como antiinflamatorio, en el manejo de fiebre malárica, así como en cirrosis hepática, hipertensión y diabetes. El látex se aplica en

la piel para tratar fracturas y esguinces, también se usa para tratar micosis cutáneas. El látex diluido es ingerido para tratar la disentería. La savia y las hojas son usadas para tratar infecciones del oído como la otitis, se emplean también para el tratamiento de la conjuntivitis y además actúa también como antihelmíntico (14)(15).

#### 2.2.3 Piper pelmatum (santa maria)

#### 2.2.3.1 Generalidades

Es una planta herbácea perteneciente a la familia de las piperáceas. Esta especie de amplia distribución en el Neotrópico, es frecuente en bosques húmedos de tierras bajas, entre los 300-1300msnm, en Colombia se conoce popularmente como "santa maría"; crece en sitios parcialmente cubiertos en forma de maleza y tiene diversas aplicaciones curativas de uso interno y externo en algunas regiones de la amazonía peruana y boliviana. Adicionalmente, en la región noroccidental de Colombia ha sido usada como antídoto contra picaduras de serpientes (16).

#### 2.2.3.2 Descripción Botánica

Es una hierba de un a dos metro de alto, con hojas anchas, opuestas y cordiformes. Las inflorescencias son como espigas carnosas y blandas, posición axilar con numerosas flores blanquecinas. Los frutos son

carnosos. Se describe como Subarbusto de madera blanda, simple o laxamente ramificado, erecto, 0,6-2m de alto, tallos verde pálidos (ocasionalmente con tintes rojizos), nudos prominentes; hojas membranáceas, verde opacas en la haz, verde pálidas en el envés, ovadas a suborbiculares, flores densamente agrupadas sobre el raquis, raquis glabro; bráctea floral de triangular a orbicular, densamente fimbriada, Fruto triangular, 0,4-1,3mm de longitud, apicalmente truncado, glabro, de color marrón cuando seco (17)(figura Nº 2).

FIGURA Nº 2 Hojas de Piper peltatum



Fuente: Autora 2016

#### 2.2.3.3 Clasificación Taxonomía

Dominio: Eukaryota

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Piperal

Familia: Piperaceae

Género: Piper

Especie: Piper peltatum

Nombre

vulgar: santa maria

#### 2.2.3.4 Fitoquímica

Estudios realizados demuestran que de esta especie se han aislado metabolitos como las flavonas y esteroides Otros estudios demuestran la (8).presencia de amidas. lignanos, neolignanos, hidroquinonas, alcaloides, terpenos, compuestos oxigenados, y derivados del ácido benzoico. La función de los compuestos fenólicos aislados de plantas está asociada a su similitud estructural con sustancias antioxidantes de origen sintético. Las propiedades biológicas y químicas de las plantas medicinales dependen de muchos factores, entre las cuales figuran las propiedades edáficas de la región de cultivo, las condiciones del clima, fase vegetativa, entre otros, razón por la cual es importante el estudio

de la flora en diferentes sitios, países y zonas geográficas (18).

#### 2.2.3.5 Usos Medicinales

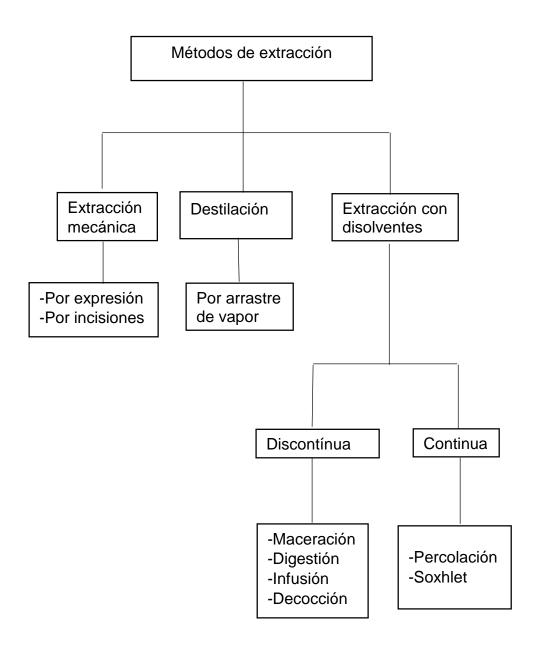
hojas de Piper peltatum se emplean Las tradicionalmente en algunas regiones de la amazonia diurético, antipirético, peruana como quemaduras, blenorragia o gonorrea, se usa también cicatrizante en heridas, como antiinflamatorio de uso interno y externo, como antihelmíntico, para aliviar enfermedades digestivas y para tratar úlceras cancerosas (19).

#### 2.2.4 Extracción del Principio Activo del Vegetal

#### 2.2.4.1 Definición

Es la separación de sustancias biológicamente activas de materiales inertes o inactivos de una planta, a partir de la utilización de un disolvente seleccionado y de un proceso de extracción adecuado. Donde se obtienen por lo menos, dos compuestos: la solución extraída en su disolvente (el extracto) y el residuo (bagazo)(20). Los principios activos contenidos en las plantas pueden ser extraídos mediante diversos métodos extractivos (20)(diagrama de flujo Nº 1).

# DIAGRAMA DE FLUJO № 1 MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DEL VEGETAL



Fuente: Pagina wed(20)

#### 2.2.4.2 Extracción con Disolventes

Consiste en poner en contacto el vegetal con un disolvente capaz de solubilizar los principios activos. Los principios activos deben pasar del vegetal al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido con los principios activos disueltos y un material vegetal sobrante que es el bagazo. La naturaleza del disolvente pueden ser: agua, mezclas hidroalcohólicas, propilenglicol y disolventes orgánicos.

La extracción mediante disolventes se realiza de dos formas:

 El estático de extracción discontinua.- es a temperatura ambiente y se realiza en una etapa aquí se encuentra a la maceración.

Maceración: el vegetal seco y molido se pone en contacto con el disolvente a temperatura ambiente, dejando la mezcla en reposo durante un tiempo determinado de 3 а 10 (normalmente días). Transcurrido el tiempo de maceración se decanta el extracto, el extracto obtenido suele concentrarse eliminando total o parcialmente el disolvente, mediante la bomba al vacío. Utilizando un rotaevaporador, el vacío reduce la temperatura necesaria para evaporar el disolvente (21).

■ El dinámico de extracción continúa.- El disolvente utilizado para la extracción se hace pasar por el vegetal arrasando a los principios activos de un paso. Este proceso permite extraer por completo los compuestos químico presentes en el vegetal entre ellos se encuentran la percolación y el soxhlet.

#### 2.2.5 Métodos de Estudios de la Sensibilidad Antimicrobiana

#### 2.2.5.1 Generalidades

Para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana no implica solo realizar un conjunto de técnicas y medir los resultados. Es necesario saber interpretar los mismos y darles el significado que realmente tienen. Los métodos comúnmente utilizados son: difusión en agar (pozo o disco de papel) que permite obtener datos cualitativos y el método de dilución (agar o caldo de cultivo) que permite obtener datos cuantitativos.

- Métodos cuantitativos.-Son aquellos procedimientos que permiten determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) y la concentración bactericida mínima (CBM).
- Métodos cualitativos (disco difusión).-Son aquellos procedimientos que permiten clasificar directamente a un microorganismo como sensible o resistente. Este es uno de los métodos más utilizados en la práctica diaria.

#### 2.2.5.2 Estandarización

Todos los métodos están estandarizados por el National Commitee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS), de manera que los resultados sean reproducibles y comparables. La realización de estos procedimientos requiere la utilización de cepas de control de calidad con resultados conocidos, de manera de saber si nuestra metodología se realizó en forma correcta.

Dentro de los parámetros a estandarizar se encuentran los siguientes:

- a) El tipo de bacterias a estudiar, ya que no es lo mismo un microorganismo de crecimiento rápido que lento, exigente o no exigente, aerobio o anaerobio.
- b) Medios de cultivo para realizar las pruebas. De los medios disponibles que se consideran son: Agar nutritivo que es útil porque permanece sólido incluso a altas temperaturas. Además, el crecimiento bacteriano en este agar lo hace en la superficie, por lo que se distinguen mejor las colonias pequeñas y el agar como el caldo Mueller Hinton (MH) usados de rutina por que muestran buena reproducibilidad entre los diferentes lotes comerciales.
- c) El tiempo de incubación: la mayoría de los resultados deben leerse entre 18 y 20 horas, aunque para la lectura de la meticilinorresistencia en Staphylococcus aureus debe incubarse 24 horas completas.

 d) La temperatura de incubación, lo cual altera la velocidad de crecimiento bacteriano y su viabilidad (22).

#### 2.2.5.3 Método de Disco Difusión

Este es un método cualitativo, que se caracteriza por ser fácilmente estandarizable y que está indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido. Partiendo de una muestra clínica siempre se debe realizar un cultivo puro para poder comenzar el estudio de la sensibilidad antibiótica. Para esto se utiliza la técnica de aislamiento en placas que contengan un medio adecuado para la cepa en estudio (al cual además se le deben otorgar las condiciones atmosféricas específicas de esa cepa). El antibiograma por disco difusión basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores, es uno de los métodos que el NCCLS recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana ante el estudio de nuevos antibióticos.

El método de disco difusión consiste en depositar en la superficie de una placa de agar Mueller Hinton (MH) previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano (22)(23).

#### 2.2.6 Escherichia coli

#### 2.2.6.1 Generalidades

Escherichia coli (E. coli), es el miembro más frecuente e importante del género Escherichia. Este microorganismo se asocia a múltiples enfermedades, incluída la gastroenteritis е infecciones extraintestinales, como las urinarias, meningitis y sepsis. Multitud de cepas son capaces de producir enfermedad y algunos serotipos se asocian a una mayor virulencia como por ejemplo la Escherichia coli O:152 H:7 que es la causa más frecuente de la colitis hemorrágica. La Escherichia coli son bacilos anaerobios facultativos. gramnegativos fermentadores; oxidasa negativos. El lipopolisacárido consiste en un polisacárido externo somático O, un núcleo polisacárido (antígeno común) y el lípido A (endotoxina). Perteneciente a la familia de las enterobacterias. Es capaz de crecer a temperatura preferentemente de 37°C; tienen formas móviles y sin movilidad, estas últimas sin flagelos (24).

#### 2.2.6.2 Clasificación

Escherichia coli Productoras de Gastroenteritis, Según su Patogenicidad y Virulencia

- Escherichia coli enterohemorrágica (ECEH)
- Escherichia coli enterotoxigénica (ECET)
- Escherichia coli enteroinvasiva (ECEI)
- Escherichia coli enteropatogénica (ECEP)
- Escherichia coli enteroagregativa (ECEA)

#### 2.2.6.3 Epidemiología

En el tubo digestivo existen grandes cantidades de *Escherichia coli*. Estos microorganismos pueden comportarse como patógenos oportunistas causando enfermedades digestivas y extraintestinales, la mayoría de las infecciones son endógenas (flora microbiana normal del paciente) y otras se adquieren de forma exógenas como gran parte de las gastroenteritis (25).

#### 2.2.7 Staphylococcus aureus

#### 2.2.7.1 Generalidades

(S. Staphylococcus aureus aureus) son un cocos inmóviles, de 0,5 a 1µ de diámetro, forman grupos de células irregulares semejantes a racimos de uvas. Unas pocas cepas producen una cápsula o capa de baba que incrementa la virulencia del microorganismo. Los Staphylococcus aureus son microorganismos grampositivos. Su estructura está compuesto por peptidoglucano, ácidos teicoicos, catalasa, proteína A, coagulasa. Se desarrolla rápidamente en todos los medios, fermentan lentamente en carbohidratos, como el manitol, pero no produce gas. La actividad proteolítica varía mucho de una cepa a otra. Stphylococcus aureus producen pigmentos que varían desde un color blanco hasta un amarillo intenso y tienen un metabolismo anaerobio facultativo (26).

#### 2.2.7.2 Epidemiología

Los Stphylococcus aureus están presentes en la mucosa nasal del hombre (de forma temporal un 60% de y de forma permanente un 20 y 30% de las personas) a veces también en la piel. Las manifestaciones clínicas de algunas enfermedades estafilocócicas se deben casi exclusivamente a la actividad de la toxina como por ejemplo el síndrome de la piel escaldada por estafilococos, intoxicación alimentaria por estafilococos y el síndrome del shock mientras afecciones tóxico. que otras son consecuencia de la proliferación de los microorganismos, la cual da lugar a la formación de los abscesos y la destrucción tisular por ejemplos infecciones cutáneas. endocarditis. neumonía, empiema, osteomielitis y artritis séptica. La bacteria se puede propagar de persona a persona por contacto directo, a través de objetos contaminados (tales como teléfonos, pomos de puertas, mandos a distancia del televisor o los botones del ascensor) o, menos frecuentemente, por inhalación de gotitas infectadas dispersadas al estornudar o toser (26).

#### 2.2.8 Salmonella enteritidis

#### 2.2.8.1 Generalidades

La Salmonella enteritidis, pertenece a la familia enterobacteriaceae, bacilo Gram negativo, no esporulado, causante de brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), especialmente a

través de alimentos de origen aviar. Esta bacteria puede estar dentro de huevos de aves infectadas, si ellos son comidos crudos o con cocción incompleta, la bacteria puede producir enfermedad (27).

#### 2.2.8.2 Epidemiología

Salmonella enteritidis, es un patógeno entérico que provoca un cuadro de enterocolitis con diarrea, fiebre y dolor abdominal. Esta enfermedad tiene un corto período de incubación que no supera los 3 días y que generalmente se expresa en menos de 24 horas. Su duración es autolimitada, alcanzando en promedio 8 días. Las infecciones por Salmonella enteritidis no tienen un perfil hospitalario, ya que rara vez se acompaña de complicaciones potencialmente letales, es básicamente una causa de diarrea de manejo ambulatorio (27).

#### 2.3 Definición de Términos Básicos

- Actividad Antimicrobiana: Efecto inhibitorio frente a determinado microorganismo (halo de inhibición).
- Extracto Etanólico: Es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, usando un solvente como el etanol.
- Plantas Nativas: Se llama plantas nativas a aquellas especies vegetales que son propias de la región en la que se encuentran cultivadas.
- Fitoterapia: La fitoterapia es todo aquel vegetal que contiene uno o varios principios activos que pueden ser utilizados en el tratamiento curativo o paliativo de determinadas enfermedades.
- Bacterias: Las bacterias son microorganismos unicelulares, con movilidad propia y que ostentan un muy pequeño tamaño y diversidad en su forma.
- Difusión en Agar: Es cuando disco impregnado de antibiótico hace contacto con la superficie húmeda del agar. El agua es absorbida por el papel de filtro y el antibiótico difunde hacia el medio circundante.
- o Patógeno: Microorganismo capaz de producir enfermedad.
- Medio de Cultivo: Son una mezcla de nutrientes, que en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas permiten el crecimiento de los microorganismos.

#### **CAPÍTULO III**

#### METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1 Tipo de Investigación

- Aplicada: Esta investigación es aplicada, porque para el estudio se empleó los procedimientos del método de extracción con etanol a temperatura ambiente y el método de difusión en placa por discos, para determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las plantas nativas: Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria).
- De campo: Porque se realizó en el área de la salud, en la especialidad de farmacia y bioquímica.

#### 3.1.1 Métodos

#### Los métodos son:

- Científico: porque el objetivo es probar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las plantas: Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maría), frente a las cepas patógenas.
- Descriptivo: el trabajo de investigación describe: Se recolectó el material vegetal, se realizó la extracción etanólica, se enfrentó el extracto vegetal frente a las cepas patógenas de Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076. Y se determinó la actividad

antimicrobiana, realizando la medición de los halos de inhibición en milímetros de diámetro.

- Deductivo: porque se trabajó solo con los extractos etanólicos de las hojas de las plantas: Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria).
- Inductivo porque se determinó la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de las plantas: Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maría) llegándose a la conclusión de que todas las plantas de esta especie presentan actividad antimicrobiana frente a microorganismos patógenos.
- Cuantitativo: porque se cuantificó en milímetros los halos de inhibición del extracto etanólico de las plantas.

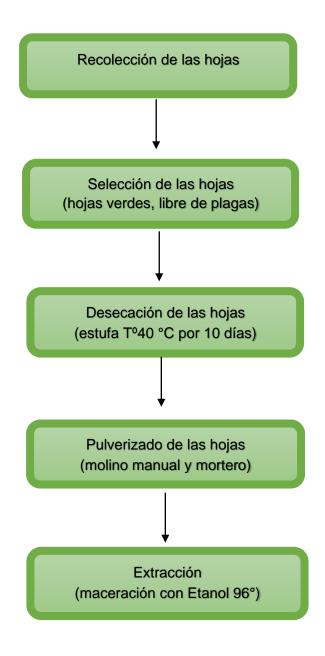
#### 3.1.2 Técnicas

#### 3.1.2.1 Técnica de extracción del vegetal

Existe una variedad de técnicas para la obtención del extracto de un vegetal, en el presente trabajo se realizó como se describe en el siguiente diagrama de flujo (diagrama de flujo Nº 2).

#### DIAGRAMA DE FLUJO Nº 2

### PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA EL ESTUDIO MICROBIOLÓGICO



Fuente: Elaboración propia

 Procedimiento Realizado para la Preparación De la Muestra para el Estudio Microbiológico

Este proceso se realizó en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ingeniería Química, Laboratorio de Productos Naturales

- a) Recolección y selección de hojas: se recolectaron 1 kilogramo de hojas frescas de pan de árbol y santa maria en la estación de verano, se seleccionó hojas verdes, libres de plagas, estás fueron limpiadas con alcohol y se dejaron secar sobre papel kraft bajo sombra por 4 días (anexo Nº 3 y 4).
- b) Desecación del vegetal: El proceso de secado se realizó colocando las hojas sobre el papel Kraft, en estufa a temperatura de 40°C durante 10 días, verificando la deshidratación total hasta obtener las hojas totalmente secas y fáciles de triturar con la mano (anexo Nº 5, 6 y 7).
- c) Pulverizado: se pulverizó haciendo uso de un molino manual hasta obtener una muestra completamente molida con un aspecto de polvo. El pulverizado vegetal se guardó en frasco oscuro color caramelo, se agregó etanol de 96º y se dejó macerar por un tiempo de 12 días, cada frasco se etiquetó con los siguientes datos nombre común, nombre científico, peso y fecha de almacenamiento de la muestra. Se conservó a temperatura ambiente en un lugar fresco y seco (anexo Nº 8 y 9).

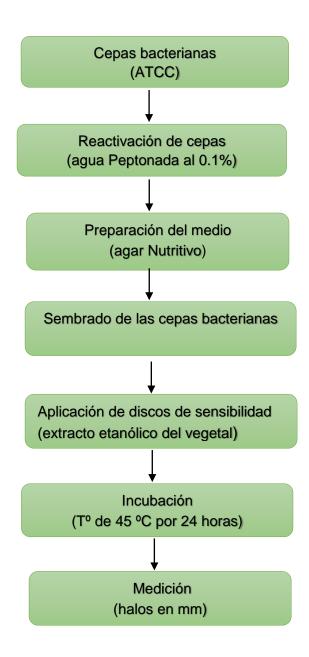
d) Extracción: Después de 12 días de maceración con etanol de 96° se procedió al filtrado utilizando papel de filtro. Se empleó bomba al vacío de alta presión y baño maria para la concentración del filtrado. Para recuperar el solvente se utilizó un rotavapor a una temperatura de 60°C a presión de 175 milibares, se recupera el solvente, y se obtiene un concentrado de 30ml de extracto de cada planta. Esto se lleva a sequedad a estufa a 40°C por 7 días y finalmente se obtiene un extracto semisólido de consistencia pastosa listo para su utilización. (anexo Nº 10,11 y 12).

#### 3.1.2.2 Técnica de Difusión en Placa

No existe una reglamentación y/o estandarización metodología para determinar actividad antimicrobiana, como se establece para antibióticos. La evaluación antimicrobiana del extracto etanólico se basa en los métodos convencionales aprobados para evaluar resistencia y/o susceptibilidad a antibióticos. Los métodos utilizados para evaluar actividad antibacteriana y antimicótica son similares, variando inóculo, preparación del medio temperatura y tiempo de incubación. La evaluación antimicrobiana del extracto etanólico resulta difícil, debido a su volatilidad. Esta característica pueden reducir la capacidad de dilución y distribución en el medio a ensayar, por lo tanto se debe añadir un agente solubilizante o disgregante. Los métodos comúnmente utilizados son: difusión en agar (pozo o disco de papel) que permite obtener datos cualitativos

y el método de dilución (agar o caldo de cultivo) que permite obtener datos cuantitativos. Para determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico en el presente estudio se utilizó el método de difusión en placa siguiendo los pasos que muestra el diagrama de flujo N° 3 (diagrama de flujo N° 3).

# DIAGRAMA DE FLUJO № 3 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA



Fuente: Elaboración propia

Procedimiento realizado para Determinar la Actividad Antimicrobiana

El procedimiento se realizó en el laboratorio de microbiología BIOEN LAB S.A.C

a) Cepas bacterianas: En el estudio realizado se utilizaron Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076.

#### b) Reactivación de cepas:

Preparación del inóculo: Las cepas bacterianas fueron reactivadas en agua peptonada al 0.1%, las cuales se incubaron por 24 horas a  $35 \pm 1^{\circ}$ C. Comprobándose que los cultivos axénicos, se preparó una suspensión en tubos estériles tapa rosca conteniendo 5ml de peptonada al 0.1%, hasta observar turbidez. Se ajustó inóculo а la concentración correspondiente al 0,5 de la escala de Mac Farland, por comparación visual con el estándar. Escala ajustada al rango equivalente de 1x108 Colonia/mililitro Unidades **Formadoras** de (UFC/ml) (anexo Nº 13).

#### c) Preparación del medio

El método fue descrito por Bauer y col, modificado. Se utilizó como medio de cultivo Agar Nutritivo, aproximadamente 25ml de agar a 45°C, fueron vertidos sobre placas Petri de

90mm de diámetro dejando solidificar a temperatura ambiente (anexo Nº 14).

#### d) Sembrado de cepa bacteriana

Los inóculos bacterianos utilizados fueron 1x10<sup>8</sup> UFC/ml, se colocaron 100µ sobre el medio de cultivo ya solidificado, con ayuda de un hisopo estéril y siguiendo tres direcciones de siembra se consiguió una buena dispersión del inóculo, se dejó reposar por 15 minutos (anexo Nº 15).

#### e) Aplicación de discos de sensibilidad

Discos de papel filtro Whatman N° 3, de 6mm de diámetro previamente esterilizados por radiación ultravioleta por 30 minutos, se colocaron en el centro de la placa con la ayuda de una pinza estéril, al cual se impregnó con 15µ del extracto etanólico puro de pan de árbol y santa maria (figura N° 3).

FIGURA Nº 3 Aplicación de discos de sensibilidad



#### f) Incubación

Las placas se incubaron 24 horas a  $35 \pm 1^{\circ}$ C en aerobiosis, transcurrido el tiempo se procedió a la observación y medición de las zonas de inhibición de crecimiento (diámetro), expresado en milímetros. Los ensayos se realizaron por duplicado.

#### g) Lectura de los halos

Los valores obtenidos se promediaron hallándose el diámetro promedio que fue considerado para medir la actividad antimicrobiana (anexo Nº 15).

#### 3.1.3 Diseño

- El diseño es no experimental, porque se empleó métodos habituales por el cual se determinó la actividad antimicrobiana del extracto etanólico frente a microorganismos patógenos.
- Es transversal, porque se realizó durante los meses de julio a octubre del 2016.

#### 3.2. Población y Muestra de la Investigación.

#### 3.2.1 Población

Plantas nativas *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maría) procedentes del departamento de Madre de Dios.

#### 3.2.2 Muestra

1Kilogramo de hojas de *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y 1Kilogramo de *Piper peltatum* (santa maria), procedentes de la provincia de Tambopata, departamento de Madre de Dios, de los cuales se obtuvieron 30ml de extracto etanólico de cada planta.

#### 3.3 Variables e Indicadores

#### 3.3.1 Variable Independiente(x)

| Variable Independiente | Indicador               |
|------------------------|-------------------------|
| Extracto etanólico     | Metabolitos secundarios |

#### 3.3.2 Variable Dependiente (y)

| Variable Dependiente     | Indicador                         |
|--------------------------|-----------------------------------|
| Actividad antimicrobiana | Halos de inhibición en milímetros |

#### 3.4 Técnicas e Instrumentos en la Recolección de Datos

#### 3.4.1 Técnicas:

- La técnica de extracción del vegetal con etanol de 96º a temperatura ambiente.
- La técnica de difusión en agar por discos.

#### 3.4.2 Instrumentos

#### a) Material biológico:

Los estudios experimentales *in vitro* se realizaron con tres cepas bacterianas tipificadas ATCC "American Type Culture Collection" de la colección de cultivos del Laboratorio de Control de Calidad:

- Escherichia coli ATCC 25922
- Staphylococcus aureus ATCC 25923
- Salmonella enteritidis ATCC 13076
- b) Medios de cultivo:
  - Agua peptonada al 0.1%.
  - Agar Nutritivo.
- c) Extracto etanólico.
- d) Placas Petri.
- e) Calibre de Vernier.

#### **CAPÍTULO IV**

#### PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Resultados

El extracto etanólico de *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maria) presentaron actividad antimicrobiana frente a microorganismos patógenos: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

a. El cuadro Cuadro Nº 1 Muestra que el extracto etanólico de Artocarpus altilis (pan de árbol) presentó actividad antimicrobiana frente a Staphylococcus aureus ATCC 25923 con un promedio de 16mm de halo de inhibición seguido de Escherichia coli ATCC 25922 con un promedio de 10mm de halo de inhibición y Salmonella enteritidis ATCC 13076 con un promedio de 9mm de halo de inhibición. Mostrando mayor actividad antibacteriana frente al microrganismo Staphylococcus aureus ATCC 25923 (cuadro Nº 1).

**CUADRO Nº 1** ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Artocarpus altilis* (PAN DE ÁRBOL) FRENTE A MICROORGANISMOS PATÓGENOS

| Microorganismos patógenas         | Diámetro del halo<br>promedio (mm) |  |  |
|-----------------------------------|------------------------------------|--|--|
| Staphylococcus aureus ATCC 25923  | 16                                 |  |  |
| Escherichia coli ATCC 25922       | 10                                 |  |  |
| Salmonella enteritidis ATCC 13076 | 9                                  |  |  |

FUENTE: Elaboración propia.

b. En el cuadro N° 2 El extracto etanólico de *Piper peltatum* (santa maria) presentó actividad antimicrobiana frente al *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con 9mm de halo de inhibición, frente a la *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 con un promedio de 9mm de halo de inhibición. Y frente a *Escherichia coli* ATCC 25922 con un promedio de 8mm de halo de inhibición. Mostrando similares valores pero con menor actividad antibacteriana frente a cepas patógenas ATCC (cuadro N° 2).

**CUADRO № 2** ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Piper peltatum* (santa maria) FRENTE A MICROORGANISMOS PATÓGENOS

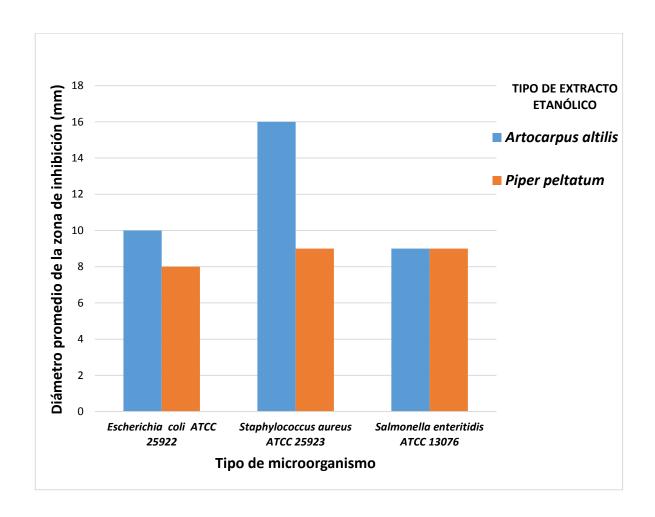
| Microorganismos patógenos         | Diámetro del halo promedio (mm) |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| Staphylococcus aureus ATCC 25923  | 9                               |
| Salmonella enteritidis ATCC 13076 | 9                               |
| Escherichia coli ATCC 25922       | 8                               |

FUENTE: Elaboración propia.

**EL GRÁFICO Nº 1** Muestra el promedio del halo de inhibición del extracto etanólico *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maria) frente a cepas patógenas:

- a. Respecto al extracto etanólico de Artocarpus altilis, frente a los microorganismos patógenos el que presentó mayor halo de inhibición fue Staphylococcus aureus ATCC 25923 con un halo promedio de 16mm seguido de Escherichia coli ATCC 25922 un halo promedio de 10mm y el de menor sensibilidad fue Salmonella enteritidis ATCC 13076 un halo de 9mm.
- b. En cuanto extracto etanólico *Piper peltatum*, frente a los microorganismos patógenos presentaron silimares valores de halo de inhibición, *Stphylococcus aureus* ATCC 25923 presentó un halo promedio de 9m, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 con un halo promedio de 9mm y *Escherichia coli* ATCC 25922 con un halo promedio de 8mm.

**GRÁFICO** Nº 1 PROMEDIO DEL HALO DE INHIBICIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO *Artocarpus altilis* (pan de árbol) Y *Piper peltatum* (santa maria) FRENTE A CEPAS PATÓGENAS



FUENTE: Elaboración propia

#### 4.2 Análisis e Interpretación de Resultados

- a. El extracto etanólico de Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria) presentaron actividad antimicrobiana frente a microorganismos patógenos ATCC.
- b. El extracto etanólico Artocarpus altilis (pan de árbol) presentó actividad antimicrobiana frente a los patógenos bacterianos, la especie Staphylococcus aureus ATCC 25923 mostró ser de mayor sensibilidad frente al extracto, desarrollando una zona de inhibición promedio de 16mm, demostrando ser representativo, a diferencia de la especie Escherichia coli ATCC 25922 con 10mm de halo de inhibición y Salmonella enteritidis ATCC 13076 con 9mm de zona de inhibición presentaron mínima actividad antibacteriana, que no demuestra significación estadística.
- c. En cuanto al extracto etanólico *Piper peltatum* (santa maria) presentó actividad antimicrobiana frente a los microorganismos patógenos: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un promedio de 9mm de halo de inhibición, *Escherichia coli* ATCC 25922 con 8mm y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 con 9mm de halo de inhibición. Demostrando tener actividad antibacteriana pero con menor sensibilidad, sin significación estadística.

#### **DISCUSIÓN**

Según la bibliografía consultada respecto a los estudios realizados para determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de *Artocarpus altilis* y *Piper peltatum* frente a cepas patógenas. Existen pocas referencias realizados con las mismas pruebas microbiológicas pero si con la misma especie vegetal, lo que avala nuestra investigación.

Ruiz Q. J.; Roque M. (2009) **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE CUATRO PLANTAS DEL NOR-ORIENTE PERUANO**, en este estudio se trabajó con la género *Piper* y señala que los extractos de plantas que mostraron actividad antimicrobiana significativa fue: el extracto de *Piper lineatum* y la especie más susceptible fue *Staphylococcus aureus*, en nuestro estudio el extracto de *Piper peltatum* presento mayor actividad antimicrobiana frente a la especie *Staphylococcus aureus*, esto avala nuestra investigación porque se demuestra el efecto antimicrobiano que tiene esta planta.

Medina Medina M. En su investigación titulado "EVALUACIÓN **ANTIMICROBIANA AISLAMIENTO** Υ DE **METABOLITOS** SECUNDARIOS DE LA ESPECIE Artocarpus altilis (pan de árbol) DE LA PROVINCIA DE ZAMORA CHICHIPE, realizado en el año 2014, señala que el extracto de las hojas de Artocarpus altilis tiene buena actividad antimicrobiana frente a Staphylococcus aureus ATCC 25923. Similar resultado se obtuvo en nuestra investigación reportando mayor actividad antimicrobiana del extracto etanólico de Artocarpus altilis frente a Staphylococcus aureus ATCC 25923 con un promedio de 16 mm de diámetro de halos de inhibición, lo que respalda nuestra investigación. No obstante las técnicas microbiológicas utilizadas fueron diferentes, pero se trabajó con la misma especie.

Según el estudio realizado por Cavalcante G. Lima Neto JF. Omena Bomfim E. Floria Santos MJ. **ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE** 

Artocarpus heterophyllus EN EL DESARROLLO DE Escherichia coli, realizado en el año 2013, se demostró que la especie bacteriana Escherichia coli (ATCC 25922) fue resistente al extracto de Artocarpus heterophyllus, presentando un halo de inhibición de 7mm. En nuestra investigación el extracto etanólico Artocarpus altilis presentó mínima actividad antibacteriana frente a la bacteria Escherichia coli ATCC 25922 desarrollando un halo promedio de inhibición de 10mm de diámetro. Los resultados se asemejan, lo que respalda nuestra investigación. Sin embargo no se trabajó con misma especie vegetal pero si pertenece al mismo género y familia.

Vidal Espinoza D. en su investigación titulado "AISLAMIENTO, CARACTERIZACIÓN Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE METABOLITOS SECUNDARIOS A PARTIR DE LA ESPECIE Piper peltatum, realizado en el año 2013. Reporta que el extracto de Piper peltatum presentó actividad antimicrobiana únicamente frente a bacterias gram positivas. Resultados similares se obtuvieron en nuestra investigación determinando que el extracto etanólico Piper peltatum presentó mayor actividad antimicrobiana frente a Staphylococcus aureus y menor actividad frente a Escherichia coli. Según este estudio la actividad biológica se debe a la flavona 5-Hydroxy-4',7-dimethoxy-flavona y una mezcla de esteroles: β-sitosterol, estigmasta-5,22-dien-3-ol y campesterol, aislados del extracto.

ANTIMICROBIANA A PARTIR DE LOS EXTRACTOS DE HOJAS DE SEIS ESPECIES DEL GENERO *Piper piperacea*", realizado en el año 2008 en esta investigación se demostró que todas las especies *Piper* mostraron algún tipo de actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, y *Escherichia coli*. Lo que se comprueba en nuestra investigación, demostrando mayor actividad antimicrobiana del extracto de *Piper peltatum* (santa maria) frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y menor actividad frente *Escherichia coli* ATCC 25922.

#### **CONCLUSIONES**

En el presente estudio de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de plantas nativas *Artocarpus altilis* (pan de árbol) y *Piper peltatum* (santa maria) procedentes de Madre de Dios, los resultados de las pruebas en agar mostraron que tienen actividad antimicrobiana frente a cepas patógenas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076.

El extracto etanólico de *Artocarpus altilis* (pan de árbol) presentó actividad antimicrobiana significativa frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un promedio de 16mm de zona de inhibición, seguido de *Escherichia coli* ATCC 25922 con un halo de 10mm y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 con un halo de 9mm.

El extracto etanólico *Piper peltatum* (santa maria) presentó menor actividad antimicrobiana frente a los microorganismos patógenos: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un halo de 9mm, *Escherichia coli* ATCC 25922 con un halo de 9mm y *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 con un halo de 8mm.

#### **RECOMENDACIONES**

- 1 Continuar con la investigación de extracto etanólico de Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria) aportando nuevas informaciones.
- 2 Determinar la eficacia y/o toxicidad de los compuestos activos del extracto in vivo con el fin de determinar su inocuidad.
- 3 Evaluar extractos obtenidos con solventes de diferente polaridad para validar su conocimiento.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Isau Huamantupa I., Cuba M. Urrunaga R., Paz E., Ananya N.Callalli M., Pallqui N.y Coasaca H. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los Mercados de la ciudad del Cusco Rev. Perú. biol.2011; 283. [Revista] [Fecha de acceso 15 de junio del 2026]URL disponible en: sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/biologia/v18n3/pdf/a04v18n3.pdf
- 2 Pérez C.M. Actividad antimicrobiana Rojas in vitro Pseudelephantopus spiralis (Lessing) Cronquis y Alternanthera halimifolia Revista\_14\_Esp\_07.pdf. 2011 [Revista] [Fecha de 12 2016].URL acceso junio del disponible en: dspace.unapiquitos.edu.pe/bitstream/unapiquitos/136/1/tesis%20ori ginal.pdf
- 3 Departamento de Madre de Dios.URL disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Departamento de Madre de Dios
- 4 Ruiz Q. J. Roque M. Actividad antimicrobiana de cuatro plantas del nor-oriente peruano.ciencia v12 n1.2009 [Revista] [Fecha de acceso 17 de junio del 2016].URL disponible en: sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v12\_n1/pdf/a07v12n1.pdf
- 5 Medina Medina M. Evaluación antimicrobiana y aislamiento de metabolitos secundarios de la especie artocarpus altilis (parkinson) fosberg. Pan de árbol de la provincia de zamora chichipe.REV...positorio digital.2014[Tesis] [Fecha de acceso 18 de junio 2016]. URL disponible en:

### <u>dspace.utpl.edu.ec/bitstream/.../9064/1/MedinaMedinaMirian\_FIN%</u> <u>20DE%20TT.pdf</u>

- Cavalcante G. Lima Neto J.F. Omena Bomfim E. Floria Santos M J.Actividad antimicrobiana de *Artocarpus heterophyllus* I. En el desarrollo de *Streptococcus pneumoniae* y *Escherichia coli*. Scientia Plena.V.9. 2013 [Tesis] [Fecha de acceso 19 de junio del 2016].URL disponible en:<a href="https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/1154">https://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/1154</a>
- Vidal Espinoza D. Aislamiento, caracterización y actividad biológica de metabolitos secundarios a partir de la especie *Piper peltatum*. UTPL.2013[ fecha de acceso 20 de junio del 2016].URL disponible en:

<u>dspace.utpl.edu.ec/bitstream/.../1/Vidal%20Espinosa%20Dayana%</u> 20-Bioquimica.pdf.

- Pino Benitez N .Actividad antimicrobiana a partir de los extractos de hojas de seis especies del género *Piper* I. Piperacea. rev. Investigación, biodiversidad y desarrollo 2008;27(1):67-75. .[ fecha de acceso 19 de junio del 2016].URL disponible en:<a href="https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2705040.pdf">https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/2705040.pdf</a>
- 9 Torres Chati J. "Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (molina) a. gray "arrayán" frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima Perú."2014 [Tesis] [fecha de acceso 22 de junio 2014]. URL disponible en: cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3605/1/Torres\_cj.pdf
- 10 Principios de Farmacognosia. Parte 1.mp4. Biopharmaceutical. [Video].URL disponible en:

- https://www.youtube.com/watch?v=a3RqY1976ms
- 11 El árbol del pan (Artocarpus altilis).URL disponible en: https://es.wikipedia.org/wiki/Artocarpus\_altilis.
- Fruta del pan Wikipedia, la enciclopedia libre.URL disponible en: <a href="https://es.wikipedia.org/wiki/Fruta\_del\_pan">https://es.wikipedia.org/wiki/Fruta\_del\_pan</a>
- Propiedades nutritivas y curativas del árbol del pan o yaca Tlahui.URL disponible en:www.tlahui.com/medic/medic27/yaca.htm
- 14 Artocarpus altilis. URL disponible en:

  www.rngr.net/publications/arboles-de-puerto-rico/artocarpusaltilis/at.../file
- 15 Artocarpus altilis Dr. Giuseppe MAZZA Journalist Scientific. [Revista][Fecha de acceso 4 d agosto] .URL disponible en: www.photomazza.com/?Artocarpus-altilis&lang=es
- 16 Piper peltatum.URL disponible en: herbario.up.ac.pa/Herbario/herb/vasculares/view/species/4159
- 17 Piper peltatum. Hispaniola; Plumier, Descr. pl. americ. fig. 74.
  1693.URL disponible en:
  http://bibdigital.rjb.csic.es/Imagenes/Ff(8)MUT\_Fl\_Exp\_Bot\_N\_Gra
  \_13/MUT\_Fl\_Exp\_Bot\_N\_Gra\_13\_139.pdf
- Soto Vásquez M. R. Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* I. y *Piper aduncum* I. UCV -Scientia Vol 7, No 2. 2015[fecha de acceso 17 de junio del

### 2016].URL disponible en: <u>revistas.ucv.edu.pe/index.php/UCV-SCIENTIA/article/viewFile/858/672</u>

- 19 *Piper peltatum.* NaturaLista. URL disponible en: www.naturalista.mx/taxa/132874-Piper-peltatum
- 20 Extracción de principios activos de planta SlideShare URL. Disponible en: es.slideshare.net/Rennie533/extraccin-de-principios-activos-deplanta
- Obtención de extractos a partir de plantas medicinales. Grupo de Desarrollo y Biotecnología Industrial Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. URL disponible:

  en: http://www.monografias.com/trabajos66/extractos-plantas-medicinales/extractos-plantas-medicinales/extractos-plantas-medicinales2.shtml#ixzz4EzY0zqtB
- Taroco R., Seija V., Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. URL. Disponible en:

  www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf
- Perez C. A. Evaluacion de métodos para medir la actividad inhibitoria de extractos vegetales nativos del departamento de sucre sobre bacterias y levadura patógenas. Rev. Colombiana cienc. anim. 3(1).2011. [Revista] [Fecha de acceso 20 de junio del 2016]URL disponible en: https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3691389.pdf

- 24 Murray P.R.,Rosental K.S.,Pfaller M.A. Microbiología Médica. 6ta.ed. Barcelona España. Gea Consultoría editorial; 2010.
- 25 Escherichia coli.. URL disponible en: <a href="https://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia\_coli">https://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia\_coli</a>
- 26 Sttaphylococcus aureus. curso microbiología y parasitología .editor. Silva Marco.2007.URL disponible en: <u>7staphylococcus-aureus.blogspot.com/</u>
- ¿Qué es la Salmonella? | Instituto de Salud Pública de Chile. URL disponible en: <a href="https://www.ispch.cl/content/15049">www.ispch.cl/content/15049</a>

# **ANEXOS**

#### ANEXO Nº 1

#### **MATRIZ DE CONSISTENCIA**

Título de la Tesis: ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTO ETANÓLICO DE Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum (santa maria)

Presentado por: CRISTINA MARÍA ATENCIO PACO

| PROBLEMA GENERAL   | OBJETIVO GENERAL  | HIPÓTESIS GENERAL   | TIPO DE       | MÉTODO Y DISEÑO                  | VARIABLES                     | POBLACIÓN Y                               |
|--|---|---|---------------|----------------------------------|-------------------------------|---|
|  |   |   | INVESTIGACIÓN | DE INVESTIGACIÓN                 |                               | MUESTRA                                   |
| ¿El extracto etanólico de Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum | Determinar la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de <i>Artocarpus</i>    | El extracto etanólico de Artocarpus altilis (pan de árbol) y Piper peltatum | Aplicada      | Método de                        | Variable<br>Independiente(x): | Población:                                |
| (santa maría) procedentes de Madre   | altilis (pan de árbol) y Piper peltatum   | (santa maría) procedentes de Madre  | Aplicada      | Investigación:                   | independiente(x).             | Plantas nativas                           |
| de Dios presentan actividad  | (santa maría) procedentes de Madre  | de Dios presentarían actividad  | De campo      |                                  | Extracto etanólico            | Artocarpus altilis                        |
| antimicrobiana frente a cepas patógenas ATCC, julio- octubre                 | de Dios frente a cepas patógenas ATCC, julio -octubre 2016.                           | antimicrobiana frente a cepas patógenas ATCC, julio -octubre                |               | -Científico<br>-Descriptivo      |                               | (pan de árbol) y<br><i>Piper peltatum</i> |
| 2016?  | ATCC, julio -octubre 2010.  | 2016.   |               | -Descriptivo<br>-Deductivo       | Indicador(X)                  | (santa maría)                             |
|  |   |   |               | - Inductivo y                    |                               | procedentes del                           |
| Problemas Específicos  | Objetivos Específicos:  | Hipótesis Específica:   |               | -Cuantitativo.                   | Metabolitos<br>secundarios    | departamento de Madre de Dios.            |
| P.E.1 ¿El extracto etanólico de la   | O.E.1 Determinar la actividad   | H.E.1 El extracto etanólico de la   |               |                                  | 300011001103                  | Wadie de Dios.                            |
| planta nativa Artocarpus altilis (pan  | antimicrobiana del extracto etanólico   | planta nativa Artocarpus altilis (pan                                       |               |                                  |                               | Muestra:                                  |
| de árbol) presenta actividad antimicrobiana frente a cepas                   | de la planta nativa <i>Artocarpus altilis</i><br>(pan de árbol) frente a <i>cepas</i> | de árbol) presentaría actividad antimicrobiana frente a cepas               |               | Diseño de la                     |                               | 1Kilogramo de                             |
| patógenas: Escherichia coli ATCC   | patógenas tales como: Escherichia   | patógenas como: Escherichia coli  |               | Investigación:                   | Variable                      | hojas de <i>Artocarpus</i>                |
| 25922, Staphylococcus aureus   | coli ATCC 25922, Staphylococcus   | ATCC 25922, Staphylococcus  |               |                                  | Dependiente(Y):               | altilis (pan de árbol)                    |
| ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076?                              | aureus ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076.                                | aureus ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076.                      |               | -No experimental<br>-Transversal | Actividad                     | y 1Kilogramo de<br><i>Piper peltatum</i>  |
| A100 10070:  | chemidis A100 15076.  | chemias A100 10010.   |               | Transversar                      | antimicrobiana                | (santa maría),                            |
| P.E.2 ¿El extracto etanólico de la   | O.E.2 Determinar la actividad   | H.E.2 El extracto etanólico de la   |               |                                  |                               | procedentes de la                         |
| planta nativa <i>Piper peltatum</i> (santa maría) presenta actividad         | antimicrobiana del extracto etanólico de <i>Piper peltatum</i> (santa maría) frente   | planta nativa <i>Piper peltatum</i> (santa maría) presentaría actividad     |               |                                  |                               | provincia de<br>Tambopata,                |
| antimicrobiana frente a cepas  | a cepas patógenas: Escherichia coli   | antimicrobiana frente a cepas   |               |                                  | Indicador(Y):                 | departamento de                           |
| patógenas: Escherichia coli ATCC   | ATCC 25922, Staphylococcus aureus   | patógenas como: Escherichia coli  |               |                                  |                               | Madre de Dios, de                         |
| 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Salmonella enteritidis             | ATCC 25923 y Salmonella enteritidis ATCC 13076.                                       | ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 25923 y Salmonella                   |               |                                  | Halos de inhibición<br>en mm  | los cuales se obtuvieron 30ml de          |
| ATCC 13076?  | A100 13070.   | enteritidis ATCC 13076.   |               |                                  | GITTIIII                      | extracto etanólico                        |
|  |   |   |               |                                  |                               | de cada planta.                           |
|  |   |   |               |                                  |                               |   |

#### ANEXO Nº 2

#### **ABREVIATURAS**

AcOEt Acetato de Etilo

ATCC American Type Culture Collection

CH<sup>2</sup>Cl<sup>2</sup> Diclorometano

CMI Concentración Mínima Inhibitoria

EtOH Etanol

Ext1 Extracto total en Acetato de etilo

Ext1.1 Extracto en Acetato de etilo

Ext1.2 Residuo con clorofila del extracto total en acetato de etilo

m.s.n.m. metros sobre el nivel del mar

mg miligramos

μL Micro litros

μg Microgramo

### ANEXO Nº 3 Hojas de Artocarpus altilis (pan de árbol)



Fuente: Autora 2016

### ANEXO Nº 4 Hojas de Piper peltatum (santa maria)



**ANEXO Nº 5** Desecación del Vegetal en Estufa a temperatura de 40 °C



**ANEXO Nº 6** Hojas de *Piper peltatum* (santa maría) después del proceso de secado



# **ANEXO Nº 7** Hojas de *Artocarpus altilis* (pan de árbol) después de proceso de secado



Fuente: Autora 2016

**ANEXO Nº 8** Pulverizado de las Hojas



## **ANEXO Nº 9** Maceración del Vegetal en Frascos Oscuros



Fuente: Autora 2016

ANEXO Nº 10 Filtrado del Extracto vegetal



**ANEXO Nº 11** Proceso para la Concentración de extracto vegetal



**ANEXO Nº 12** El Extracto se llevó a Sequedad a una temperatura de 40 °C



ANEXO № 13 Reactivación de cepas patógenas ATCC



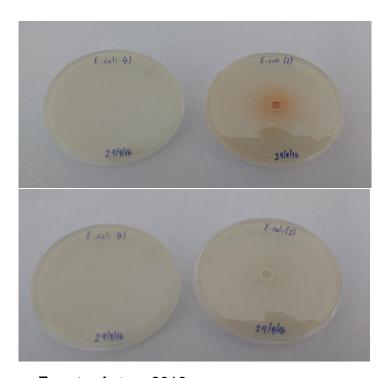
ANEXO Nº 14 Preparación del medio de cultivo



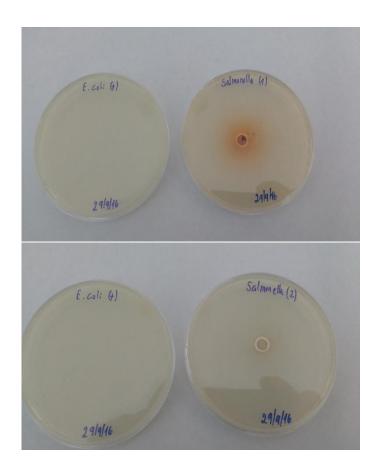
**ANEXO Nº 15** Sembrado de cepas bacterianas en placas Petri por duplicado.



**ANEXO Nº 16** Formación de los halos de inhibición de *Escherichia coli* ATCC 25922 frente al extracto etanólico



**ANEXO Nº 17** Formación de los halos de inhibición de Salmonella enteritidis ATTCC 13076



**ANEXO № 18** Formación de los halos de inhibición de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

