



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

**TESIS**

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO  
ETANÓLICO DE LAS SEMILLAS DE GUANÁBANA**

*Annona muricata L.*

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**BACHILLER:** LLANQUE APAZA, David Savitsky

**ASESOR:** Mg. JARAMILLO BRICEÑO, Marilú Ricardina

**LIMA - PERÚ**

**2016**

## **Dedicatoria**

A mi madre Nicolasa por su apoyo y en memoria de mi padre David por ser modelo de honestidad, perseverancia y superación.

## **Agradecimientos**

A mi asesora, Mg. Marilú Jaramillo, por su generosidad y compartir sus conocimientos para la culminación de este trabajo.

## RESUMEN

*Annona muricata* L. es un árbol, de gran interés debido a los compuestos activos que se encuentran en la corteza, raíz y semillas. Hoy en día las enfermedades producidas por bacterias patógenas más comunes en todo el mundo constituyen un problema de salud pública.

El presente estudio se determinó la actividad antioxidante y la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las semillas *Annona muricata* “Guanábana” sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Se realizó la actividad antioxidante mediante la prueba con DPPH y la actividad antibacteriana utilizando el método de difusión en placa. Los resultados finales obtenidos en los ensayos fueron los siguientes: En la determinación de la actividad antioxidante del extracto de guanábana presentó un promedio de capacidad antioxidante equivalentes a trolox (TEAC-DPPH) de 1.03 ug/mg y para la actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* un halo de inhibición mayor a 18 mm cuando se aplica a una concentración de 50 mg/ml y 75 mg/ml respectivamente.

Con estos resultados se concluyó que el extracto de las semillas de *Annona muricata* “Guanábana” presenta actividad antioxidante y con respecto a la actividad antibacteriana se observó inhibición del crecimiento sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Escherichia coli* ATCC 8739.

**Palabras Clave:** Antioxidante, antibacteriana, *Annona muricata*, difusión, extracto etanólico.

## ABSTRACT

*Annona muricata* L. a tree, of great interest because active compounds that are found in the bark, seeds and root. Today the diseases caused by most common pathogenic bacteria constitute a worldwide problem of public health.

This study aims to determine the antioxidant activity and antibacterial activity of ethanol extract of the seeds *Annona muricata* " Soursop " on strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The antioxidant activity was studied by DPPH test and antibacterial activity using the plate diffusion method. The final results obtained in the tests were the following: In the determination of antioxidant activity an average of TEAC - DPPH 1.03 ug / mg extract and antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* with an inhibition May 18 was obtained mm when applied at a concentration of 50 mg / ml and 75 mg / ml respectively.

With these results it was concluded that the extract of seeds *Annona muricata* "Guanábana" has antioxidant activity and with respect to the antibacterial activity was observed increased activity against *Staphylococcus aureus* ATCC6538 that against *Escherichia coli* ATCC 8739.

**Keywords:** Antioxidant, antibacterial, *Annona muricata*, diffusion, ethanol extract.

## ÍNDICE

|  |            |
|--|------------|
| <b>CARÁTULA.....</b>                                     | <b>i</b>   |
| <b>DEDICATORIA.....</b>                                  | <b>ii</b>  |
| <b>AGRADECIMIENTOS.....</b>                              | <b>iii</b> |
| <b>RESUMEN.....</b>                                      | <b>iv</b>  |
| <b>ABSTRACT.....</b>                                     | <b>v</b>   |
| <b>ÍNDICE DE TABLAS.....</b>                             | <b>ix</b>  |
| <b>ÍNDICE DE GRÁFICOS.....</b>                           | <b>x</b>   |
| <b>INTRODUCCIÓN.....</b>                                 | <b>xi</b>  |
| <br>   |            |
| <b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>       | <b>12</b>  |
| <br>   |            |
| 1.1 Descripción de la Realidad Problemática:.....        | 12         |
| 1.2 Formulación del Problema.....                        | 13         |
| 1.2.1 Problema General.....                              | 13         |
| 1.2.2 Problemas Específicos.....                         | 13         |
| 1.3 Objetivos de la Investigación.....                   | 14         |
| 1.3.1 Objetivo General.....                              | 14         |
| 1.3.1 Objetivos Específicos.....                         | 14         |
| 1.4 Hipótesis de la Investigación: .....                 | 15         |
| 1.4.1 Hipótesis General.....                             | 15         |
| 1.4.2 Hipótesis Secundarias. ....                        | 15         |
| 1.5 Justificación e Importancia de la Investigación..... | 15         |
| <br>   |            |
| <b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO .....</b>                  | <b>17</b>  |
| <br>   |            |
| 2.1 Antecedentes de la Investigación. ....               | 17         |
| 2.2 Bases Teóricas: .....                                | 21         |
| 2.2.1 Aspectos botánicos de la especie en estudio.....   | 21         |
| A. Clasificación taxonómica.....                         | 21         |
| B. Descripción botánica.....                             | 21         |
| C. Distribución geográfica.....                          | 23         |

|  |    |
|--|----|
| D. Propiedades y usos etnobotánicos.....           | 24 |
| E. Componentes químicos de la guanábana.....       | 25 |
| F. Metabólitos con actividad antimicrobiana.....   | 26 |
| G. Estudio fitoquímico.....                        | 27 |
| 2.2.2 Antioxidante.....                            | 29 |
| A. Antioxidantes en alimentos.....                 | 30 |
| B. Antioxidantes indispensables para la salud..... | 31 |
| C. Determinación de la actividad antioxidante..... | 32 |
| 2.2.3 <i>Escherichia coli</i> .....                | 34 |
| A. Patogenia.....                                  | 35 |
| 2.2.4 <i>Staphylococcus aureus</i> .....           | 36 |
| A. Patogenia.....                                  | 37 |
| 2.2.5 Los Antibiogramas.....                       | 38 |
| 2.2.6 Estudio Microbiológico.....                  | 43 |
| 2.3 Definición de Términos Básicos: .....          | 44 |

### **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN..... 46**

|  |    |
|--|----|
| 3.1 Tipo de Investigación.....   | 46 |
| 3.2 Nivel de Investigación.....  | 46 |
| 3.3 Método de Investigación.....   | 46 |
| 3.4 Diseño de Investigación.....   | 46 |
| 3.5 Población y Muestreo de la Investigación.....                          | 46 |
| 3.5.1 Población.....   | 46 |
| 3.5.2 Muestra.....   | 47 |
| 3.6 Variables e Indicadores.....   | 47 |
| 3.7 Procedimiento, Técnicas e Instrumentos de Recolección de<br>Datos..... | 48 |
| 3.7.1 Procedimiento.....   | 48 |
| 3.7.2 Técnicas.....  | 50 |
| 3.7.3 Instrumentos.....  | 50 |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS .....</b>                       | <b>51</b> |
| 4.1 Resultados .....  | 51        |
| 4.1.1 Estudio Fitoquímico preliminar del extracto etanólico de las semillas de guanábana .....        | 51        |
| 4.1.2 Estudio de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las semillas de guanábana.....   | 52        |
| 4.1.3 Estudio de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de guanábana..... | 53        |
| <b>DISCUSIÓN.....</b>   | <b>55</b> |
| <b>CONCLUSIONES.....</b>  | <b>56</b> |
| <b>RECOMENDACIONES.....</b>   | <b>57</b> |
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>  | <b>58</b> |
| <b>ANEXOS.....</b>  | <b>63</b> |



## ÍNDICE DE TABLAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Tabla N°1:</b> Clasificación taxonómica.....  | 21 |
| <b>Tabla N°2:</b> Composición de la guanábana en pulpa solamente<br>(ICBF, 2005) y pulpa y semilla (USDA, 2010).....   | 26 |
| <b>Tabla N° 3:</b> Características generales de <i>E. coli</i> .....   | 35 |
| <b>Tabla N° 4:</b> Interpretación del método de KIRBY BAUER.....   | 40 |
| <b>Tabla N°5:</b> Patrones estándar del halo de inhibición para la cepa<br><i>E. coli</i> ATCC25922 empleada como control de calidad.....  | 41 |
| <b>Tabla N°6:</b> Patrones estándar del halo de inhibición para la cepa<br><i>S. aureus</i> ATCC 25923 empleada como control de calidad..  | 42 |
| <b>Tabla N° 7:</b> Variables e indicadores.....  | 47 |
| <b>Tabla N° 8:</b> Estudio Fitoquímico del extracto etanólico de las semillas<br>de guanábana .....  | 51 |
| <b>Tabla N°9:</b> Porcentaje de captación del radical DPPH y capacidad<br>antioxidante equivalentes a trolox .....   | 52 |
| <b>Tabla N° 10:</b> Resultados del estudio de la actividad antibacteriana del<br>extracto de las semillas de guanábana sobre cepas<br>de <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739.....    | 53 |
| <b>Tabla N°11:</b> Resultados del estudio de la actividad antibacteriana del<br>extracto de las semillas de guanábana sobre cepas de<br><i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538..... | 54 |

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

|   |    |
|---|----|
| <b>Gráfico N° 1:</b> Semillas de guanábana.....   | 23 |
| <b>Gráfico N° 2:</b> Mecanismo de acción del DPPH con sustancias<br>antioxidantes.....                              | 33 |
| <b>Gráfico N° 3:</b> Flujograma del trabajo experimental.....   | 50 |
| <b>Gráfico N°4:</b> Extracto etanólico de guanábana previo al análisis del<br>estudio Fitoquímico preliminar.....   | 65 |
| <b>Gráfico N°5:</b> Extracto etanólico de guanábana después del análisis del<br>estudio Fitoquímico preliminar..... | 65 |
| <b>Gráfico N°6:</b> Extracto etanólico de guanábana y ciprofloxacino.....   | 66 |
| <b>Gráfico N°7:</b> Preparación de placas de cultivo.....   | 66 |
| <b>Gráfico N°8:</b> <i>E.coli</i> (Concentración DE 25 mg/mL).....  | 67 |
| <b>Gráfico N°9:</b> <i>E.coli</i> (Concentración De 50 Mg/mL).....  | 67 |
| <b>Gráfico N°10:</b> <i>E.coli</i> (Concentración De 75 Mg/mL).....   | 68 |
| <b>Gráfico N°11:</b> Control negativo para <i>E.coli</i> .....  | 68 |
| <b>Gráfico N°12:</b> Control positivo para <i>E.coli</i> .....  | 69 |
| <b>Gráfico N°13:</b> <i>Staphylococcus aureus</i> (concentración de 25 mg/mL).....                                  | 69 |
| <b>Gráfico N°14:</b> <i>Staphylococcus aureus</i> (concentración de 50 mg/mL).....                                  | 70 |
| <b>Gráfico N°15:</b> <i>Staphylococcus aureus</i> (concentración de 75 mg/mL).....                                  | 70 |
| <b>Gráfico N°16:</b> Control positivo para <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                       | 71 |

## INTRODUCCIÓN

El Perú es país que alberga innumerables especies vegetales, dentro de ellas se encuentra la planta Guanábana (*Annona muricata L.*), sus hojas y semillas poseen grandes propiedades, entre ellas su efectivo poder antioxidante y el antimicrobiano, que son usadas tradicionalmente en forma de infusión para el alivio de diferentes enfermedades.

En la actualidad los consumidores están muy interesados en los beneficios potenciales de la ayuda alimenticia para el control o prevención de enfermedades a través de una dieta saludable. Los compuestos fenólicos derivados del consumo de frutas y vegetales están asociados con beneficios para la salud.

La familia Annonaceae es utilizada como medicina tradicional debido a las propiedades curativas que han mostrado contra algunas enfermedades (actividad antipákinson, antimalárica, relajante del músculo liso, antitumoral, antibacterial, antifúngica, antimicrobial, leishmanicida, tripanocida, citotóxica, entre otras) esto ha despertado un interés cada vez mayor por el estudio químico de dichas especies; Siendo esta la principal motivación para la realización de este estudio.

Teniendo como base la información etnobotánica, el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante y la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de la Guanábana, mediante el uso de técnicas químicas y bioquímicas in vitro, para contribuir con la información científica que valide los usos tradicionales.

# CAPÍTULO I

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Descripción de la realidad problemática.

La contaminación del entorno y las sustancias tóxicas que ingerimos o inhalamos, especialmente si se añade la exposición frecuente a situaciones de estrés, aumenta la concentración de radicales libres en nuestro organismo y causan la aparición precoz de signos de envejecimiento o incrementan la incidencia de diferentes enfermedades degenerativas. Muchos procesos patológicos tienen como causa el desequilibrio entre los mecanismos oxidantes y la respuesta antioxidante del organismo, con un resultado altamente dañino.<sup>1,2</sup>

Otros factores externos como el tabaco, las sustancias químicas en el medio ambiente, los medicamentos, los pesticidas y los disolventes industriales también pueden favorecer la producción de radicales libres. Asimismo, la producción excesiva de radicales libres puede ocasionar estrés oxidativo y daño celular.

La piel también es proclive a padecer enfermedades originadas tanto por causas internas como externas. La protección de la epidermis frente a la infección depende de la barrera mecánica proporcionada por el estrato córneo, ya que la propia epidermis carece de vasos sanguíneos. La rotura de esta barrera por quemaduras o mordeduras, abrasiones, cuerpos extraños, trastornos dermatológicos primarios (p. ej., herpes simple, varicela, ectima gangrenoso) permite la penetración de bacterias en las estructuras más profundas. Del mismo modo, el folículo piloso puede servir de entrada a la flora normal (p. ej., *Staphylococcus*) o a bacterias extrañas (p. ej., *E. coli* en las vías urinarias).<sup>3</sup>

## 1.2. Formulación del Problema

### 1.2.1. Problema General

¿Presentará actividad antioxidante y antibacteriana el extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L (guanábana)?

### 1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Qué compuestos fitoquímicos contendrá el extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L (guanábana)?
- ¿Cuál será la capacidad antioxidante que presente el extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L (guanábana)?
- ¿Cuál será el halo de inhibición bacteriana que produce el extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L (guanábana) frente a cepas de *Escherichia coli*. ?
- ¿Cuál será el halo de inhibición bacteriana que produce el extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L (guanábana) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*?

### 1.3. Objetivos de la investigación

#### 1.3.1. Objetivo General

Determinar las actividades antioxidante y antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L. (guanábana).

#### 1.3.2. Objetivos Específicos

- Identificar los compuestos fitoquímicos del extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L. (guanábana).
- Determinar el porcentaje de capacidad antioxidante del extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L. (guanábana).
- Determinar el halo de inhibición bacteriana que produce el extracto etanólico las semillas de *Annona muricata* L. (guanábana) frente a cepas de *Escherichia coli*.
- Determinar el halo de inhibición bacteriana que produce el extracto etanólico las semillas de *Annona muricata* L. (guanábana) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

## 1.4. Hipótesis de la Investigación

### 1.4.1. Hipótesis General

El extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L. (Guanábana) presenta propiedades antioxidantes y antibacterianas.

### 1.4.2. Hipótesis Secundarias

- El extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L. (guanábana) posee compuestos fitoquímicos antioxidantes y antibacterianos.
- El extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L. (guanábana) presenta un porcentaje de capacidad antioxidante.
- El extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L. (guanábana) presenta un halo de inhibición sobre las cepas de *Escherichia coli*.
- El extracto etanólico de las semillas de *Annona muricata* L. (guanábana) presenta un halo de inhibición sobre las cepas de *Staphylococcus aureus*.

## 1.5. Justificación e Importancia de la Investigación

En los últimos años se ha descubierto el papel etiopatogénico, tanto de tóxicos endógenos como de toxinas ambientales, y de forma sostenida se propaga el concepto de que la excesiva formación de radicales libres y el estrés oxidativo que esto conlleva, conducen al daño celular y la muerte. Por lo tanto, es importante que basándonos en los últimos conocimientos aprendidos acerca del papel de los radicales libres RL y su impacto en la disfunción endotelial y de otros

órganos, se evalúe la utilidad del uso precoz o preventivo de los antioxidantes naturales que brindan las plantas.<sup>4, 5, 6,</sup>

Considerando los antecedentes respecto al uso en la medicina tradicional en el Perú de *Annona muricata* L. guanábana y las propiedades que se le atribuye (enfermedades degenerativas, antimicrobianas, antiinflamatorias, como preventivo para el cáncer etc.); además teniendo en cuenta que los antioxidantes sintéticos como butilhidroxitolueno, butilhidroxianisol y terbutilhidroquinona son ampliamente cuestionados en relación con la toxicidad y carcinogenicidad. Resulta imprescindible la validación científica de esta planta mediante estudios que brinden a la población mayor seguridad en su empleo tradicional, ya que puede tener una función similar a los antioxidantes endógenos producidos por el organismo, lo que sugiere que al consumirlos se puede prevenir enfermedades asociadas al estrés oxidativo.<sup>7,8,9</sup>

Si el presente proyecto se lograría concretarse se tentaría la posibilidad de ser usada como una alternativa terapéutica con menos efectos adversos en el tratamiento y/o prevención de enfermedades en la población en general, así mismo contribuirá con información para la mejora continua de futuras investigaciones.

La importancia del presente proyecto de tesis está dada por los aportes que brindara hacia futuras investigaciones mas específicas hacia el tratamiento y/o prevención de enfermedades de origen en el desequilibrio entre los mecanismos oxidantes y la respuesta antioxidante del organismo debido a la contaminación del entorno o sustancias tóxicas que ingerimos o inhalamos lo que aumenta la concentración de radicales con un resultado altamente dañino.



## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la Investigación

#### 2.1.1. Antecedentes Nacionales

La investigación realizada por Raúl R. **Evaluación de la actividad antioxidante y determinación de polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de bixa Orellana**. Iquitos: Universidad Nacional De La Amazonía Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2012. Hace referencia al porcentaje de capacidad antioxidante de 8 tipos de *Bixa Orellana* obteniéndose como promedio 83.7 a una concentración de 2,5 mg/ml utilizando el radical DDPH , el extracto utilizado para los 8 morfotipos fue el metanolico. <sup>6</sup>

La investigación realizada por Rojas Juan P, Ronceros Sergio G, Palacios O. **Evaluación in vitro de la actividad antileishmaniásica del extracto metanólico de siete plantas medicinales**. Ciencia e Investigación 2012; 15(2): 90-95.hace referencia a los géneros *Annona cherimola* (chirimoya), *Annona muricata* (guanábana) para la actividad antileishmaniásica in vitro del extracto metanólico y su efecto sobre la producción de óxido nítrico en macrófagos.

La producción de óxido nítrico por los macrófagos fue incrementada significativamente por efecto de *Annona cherimola*, que produjo la concentración de  $13,50 \pm 1,50 \mu\text{M}$  en comparación con  $4,90 \pm 0,10 \mu\text{M}$  del control ( $p < 0,001$ ). <sup>10</sup>

La investigación realizada por Huamaní M, Ruiz J. **Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida***

***albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú** [Tesis].Lima: Universidad Nacional De La Amazonía Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2005. Hace referencia a la actividad antifúngica de los generos; *Annona cherimolia* Mill. (hojas), *Annona muricata* L.(corteza y hojas), la actividad antifúngica se evaluo mediante los métodos de difusión en agar y dilución en agar para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), los microorganismos usados fueron la *Candida albicans* ATCC 10231 y *Aspergillus niger* ATCC 16404, indican que el extracto etanolico no presentan actividad antifungica frente a estas dos cepas de hongos. <sup>11</sup>

#### **2.1.2. Antecedentes internacionales**

La investigación realizada por Ayala A. **Sensibilidad a extractos vegetales de patógenos nosocomiales aislados del hardware de computadoras, con énfasis en bacterias drogorresistentes.** Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonia de la UNAP 2013. Dicha investigación realiza un estudio de las bacterias drogorresistentes aisladas en los diferentes hardware de computadoras ( mouse, teclados, monitores) y reportan un halo de inhibición máximo de 15 mm de diámetro sobre *Staphylococcus aureus* con el extracto de la corteza de la guanábana. <sup>12</sup>

La investigación realizada por Rodriguez A y colaboradores **Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*).** Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma de Baja California (ICA-UABC), California, México .2015 dicha

investigación indican que los extractos fenólicos y carotenoides de chiltepín mostraron un efecto diferencial sobre el crecimiento y la germinación de conidios de *A. alternata* y *F. oxysporum*, dos hongos de importancia agrícola. Dada la presencia de estos metabolitos secundarios en el chiltepín.<sup>21</sup>

La investigación realizada por Schlie guzmán M, González Esquinca A, Luna Cazáres M. **Las acetogeninas de annonaceae: efecto antiproliferativo en líneas celulares neoplásicas.** Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2009; 8 (4): 245 – 257, Dicha investigación presenta los diversos usos de las acetogeninas son variadas, desde su utilidad para comprender mejor los mecanismos de transferencia energética en el complejo I mitocondrial, hasta el desarrollo de productos para el control de insectos vectores de enfermedades de importancia médica y plagas de la agricultura. Así como también de fármacos oncológicos, para definir su utilidad en el tratamiento contra el cáncer, además indican que es indispensable incrementar los trabajos con modelos experimentales, contestando preguntas como su seguridad, vehículos y vías de administración.<sup>13</sup>

La investigación realizada por Paladino Silvia C, Zuritz Carlos A. **Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.).** Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo.2004; 44 (2):85-93, dicha investigación refiere que existe una mayor actividad antioxidante de las semillas de la uva en comparación con las hojas y depende de la concentración de los fenoles, cuanto mayor es la concentración fenólica, mayor es el poder reductor observado.<sup>14</sup>

La investigación realizada por Martínez E, Flórez Y. **Obtención y evaluación de extractos bioactivos presentes en semillas de *Annona muricata* de la región cafetera.** [Tesis].Pereira: Universidad Tecnológica. Facultad De Tecnología; 2010, esta investigación se refiere a la preparación de *Annona muricata* con el fin de evaluar su toxicidad en larvas del mosquito culex, se llega a la conclusión de que la toxicidad se debe a las acetogeninas presentes en el extracto.<sup>8</sup>

Según el **Comité Nacional de Laboratorios Clínicos Estándar de los Estados Unidos de Norteamérica (National Committee for Clinical Laboratory Standards). MIC testing supplemental tables. Document** indican que el medicamento ciprofloxacino produce un halo de inhibición de:  $\leq 15$ mm (resistente), 16 -20mm (intermedia) y  $\geq 21$ mm (sensible) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

## 2.2. Bases Teóricas:

### 2.2.1. Aspectos botánicos de la especie en estudio.

#### A. Clasificación taxonómica

Según el Herbarium Arequipense (HUSA) la clasificación taxonómica queda según la tabla N°1

**Tabla N°1: Clasificación taxonómica**

|                 |                           |
|-----------------|---------------------------|
| <b>División</b> | Magnoliophyta             |
| <b>Clase</b>    | Magnoliopsida             |
| <b>Subclase</b> | Magnoliidae               |
| <b>Orden</b>    | Magnoliales               |
| <b>Familia</b>  | Annonoaceae               |
| <b>Género</b>   | Annona                    |
| <b>Especie</b>  | <i>Annona muricata L.</i> |

**Fuente:** Constancia proporcionada por el Herbarium Arequipense (HUSA) (Adjunto 1)

#### B. Descripción botánica.

El árbol alcanza entre 8 y 12 m. de altura y su corona es poco ramificada. Las hojas tienen forma de laurel. Las flores son oblongas y tienen tres sépalos y pétalos de color verde y amarillo.

El fruto semejante a la chirimoya es asimétrico y ovoide, elipsoide o maso menos triangular de 15 – 35cm de largo por 10 – 14 cm de diámetro, es muy delicada, de color verde oscuro de cáscara muy delgada. Se debe cosechar antes de estar madura. La pulpa es blanca, cremosa, carnososa, jugosa y

ligeramente ácida, mide 20-30 cm. de largo, pudiendo pesar 2,5 kg.<sup>15, 16</sup>

- **Flores:** Nacen solitarias o en pares en tallitos cortos que brotan de las ramas viejas .Los 3 sépalos miden de 2 a 3 mm de largo. Los 3 pétalos externos muy anchos y coriáceos, amarillos, miden 2 a 3 cm. de largo por 3 cm de ancho, y están colocados alternando con los primeros. El receptáculo es grande, pubescente, y contiene numerosos estambres en la base y ovarios en la parte superior. Las flores de esta especie se abren al amanecer, cuando las anteras están iniciando la expulsión del polen; los pétalos externos caen algunas horas después, y los internos duran unos días más o a veces caen juntos.<sup>17</sup>
- **Fruto:** Es el más grande en el género, llegando a medir hasta 40 cm de largo elipsoidal u ovoide, a menudo asimétrico en el ápice debido a la polinización deficiente. Los carpelos aparecen separados por un surco fino, y en la mayoría llevan al centro una espina, curva hacia abajo, aunque hay variedades de frutos casi lisos. La superficie, aun en la madurez, es verde brillante, En la estructura interna no difiere de la *Annona cherimola* (chirimoya), excepto en que la capa de esclerénquima permite remover la cáscara más fácilmente. Los carpelos tienen pulpa blanca, jugosa y ácida, muy aromática y rica en ácido ascórbico, láctico, málico y cítrico. Además contiene minerales y vitaminas como el hierro, fósforo, calcio, vitamina A, B1, B2 y C.<sup>17,18</sup>
- **Semillas:** Son ovoides y aplanadas, de 15 a 20 mm de largo con testa oscura y brillante.

**Gráfico N° 1: Semillas de guanábana**



**Fuente:** Elaboración propia

### **C. Distribución geográfica**

La guanábana es oriunda del Perú y se cultiva en la mayor parte de América tropical, pero generalmente como plantas dispersas en los huertos.

También se planta en Hawái, la India, Filipinas y Australia. La zona de producción en el Perú es la selva central de Chanchamayo.

- Hábitat: Requiere una temperatura promedio de 25 a 28 °C y una precipitación media anual de 1.000 a 3.000 mm bien distribuida, aunque puede cultivarse en zonas con una estación seca moderada, siempre que se cuente con agua de regadío. Este cultivo se puede desarrollar en campos ubicados muy cercanos al litoral y hasta zonas con una altitud no superior a los 1000 msnm, siendo la altura ideal aquellas zonas que se ubican entre los 400 a los 600 msnm.
- Los suelos en que se cultive guanábana comercialmente, deben ser profundos, arenosos y con muy buen drenaje. Son más convenientes los suelos con pH entre 5,5 y 6,5.18

#### **D. Propiedades y usos etnobotánicos**

En los andes peruanos, las hojas de guanábana se usan para el catarro y la semilla machacada es usada para eliminar los parásitos. En la selva peruana las raíces, corteza y hojas se usan para la diabetes y como un sedante y antiespasmódico. Las tribus de Guyana utilizan las hojas y/o corteza de guanábana como sedante y tónico del corazón.

En el amazonas brasileño, una infusión de hojas se usa para problemas del hígado y el aceite de fruta es mezclado con aceite de aceituna y usado externamente para la neuralgia, dolor reumático y artritis. En Jamaica, Haití y la India occidental, el jugo de fruta y/o fruta se usa para la fiebre, los parásitos, diarrea; y la corteza o las hojas se usan como antiespasmódico, sedante y para condiciones nerviosas, también para la gripe, asma, astenia, hipertensión y parásitos.<sup>19</sup>

Numerosos principios bioactivos y fitoquímicos encontrados en la guanábana confirman muchos de sus usos en la medicina natural y han sido validados por estudios científicos. Los estudios más tempranos datan entre 1941 y 1962. Varios estudios realizados por diferentes investigadores demostraron que la corteza así como también las hojas tenían actividad hipotensora, antiespasmódica, vasodilatadora, relajante muscular y actividades cardiodepresoras en animales. Se ha verificado sus propiedades hipotensoras en ratas con las hojas de guanábana; así mismo las hojas, la corteza, la raíz, y los extractos de guanábana poseen actividad antibacteriana in vitro contra números patógenos y la corteza tiene propiedades de antifúngicas.<sup>20</sup>



## E. Componentes químicos de la guanábana.

Los componentes químicos del fruto son: agua, fibra, cenizas, grasas, proteínas, almidón, vitamina C, azúcares, potasio, sodio, magnesio, fósforo, hierro, citrulina, arginina, ácido caproico, isoquinolonas (anonaina, anoniina, asimilobina).

Las hojas contienen lactonas como; Annohexocina, Annomuricina A, B, C y E, Annomutacina, Annopentacinas A, B y C, Muricoreacina, Gigantetronemina, Murihexocina A y C, Javoricina e Isoquinolonas como; Anonaina, Anoniina, Atherospermine, Coreximina. También contiene lípidos como: ácido genticico, ácido lignocérico, ácido linoleico y ácido esteárico.

Las acetogeninas de la hoja con actividad anticancerígena son: bullatacin, Bullatacinone, muracoreacin, murihexacocin C, annomuricin A, annomuricin B, muricatocin A, muricatocin C y muricapentocin. Los componentes químicos de la semilla: lactonas, annomontacina, annonacina, annomuricatina, annonacinona, javoricina.<sup>19</sup>

Entre otros componentes, el fruto de la guanábana posee vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales, muy importantes para la salud.

Cada 100 gramos la guanábana aporta: 1 gr. de proteína, 0.95 gr. De grasas, 16.5 grs. de carbohidratos, 3.2 grs. de fibra, 58 grs. de cenizas, 10.3 mg de calcio, 26.9 mg de fósforo, 270 mg de potasio, 0.64 mg de hierro, 2 IU de Vitamina A, 28.5 mg de Vitamina C, 0.10 mg de tiamina, 0.06 mg de riboflavina, 1.3 mg de niacina, 11 mg de triptofano, 8 mg de metionina y 60 mg de lisina. Además, posee un gran contenido de agua, por lo que esta cantidad representa un aporte de sólo 65 calorías.

**Tabla N°:2 Composición de la guanábana en pulpa solamente (ICBF, 2005) y pulpa y semilla (USDA, 2010)**

| Nutrientes                   | Unidad | Valor por 100g |                  |
|------------------------------|--------|----------------|------------------|
|                              |        | Pulpa          | Pulpa y semillas |
| <b>Humedad</b>               | g      | 95.60          | 81.16            |
| <b>Energía</b>               | Kcal   | 14.00          | 66.00            |
| <b>Proteína</b>              | g      | 0.20           | 1.00             |
| <b>Lípidos</b>               | g      | 0.20           | 0.30             |
| <b>Carbohidratos totales</b> | g      | 3.00           | 16.84            |
| <b>Fibra total</b>           | g      | 0.80           | 3.30             |
| <b>Vitamina c</b>            | mg     | 10.07          | 20.60            |

**FUENTE:** Correa J, Ortiz D. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata L.*) boletín latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas. 2012; 11 (2): 111 – 126.

#### **F. Metabólitos con actividad antimicrobiana**

Los metabólitos secundarios con actividad antimicrobiana que pueden estar presentes en los extractos vegetales son terpenoides, compuestos fenólicos, fenil propanoides, estilbenos, alcaloides y saponinas. Estos metabólitos secundarios tienen la ventaja de ser rápidamente degradados en el suelo, generalmente no presentan un efecto tóxico en mamíferos y pueden ser empleados en los sistemas de agricultura orgánica y sustentable. Entre los metabólitos secundarios, los compuestos fenólicos (como fenoles y flavonoides) se caracterizan por tener actividad antimicrobiana. El efecto de estos compuestos se ha

observado principalmente en hongos causantes de problemas de salud en humanos.

Se considera que el mecanismo involucrado en la actividad antimicrobiana frente a este tipo de patógenos puede ser la inactivación de la síntesis de aminoácidos esenciales causada por la interferencia en las reacciones del fosfoenolpiruvato, la eritrosa-4-fosfato y el ácido shiquímico, lo cual favorece la producción de triptófano y disminuye la producción de fenilalanina o tirosina.<sup>21</sup>

## **G. Estudio fitoquímico**

El estudio Fitoquímico consistió en reacciones de coloración para la detección de compuestos se realizó mediante pruebas fitoquímicas de caracterización. Según los siguientes métodos y procedimiento para observar presencia de: saponinas, flavonoides, taninos y alcaloides, los que serán expresados como: Trazas (+); Regular cantidad (++); Abundante cantidad (+++). 22, 23

- Reactivo de Molish para monosacáridos. El ácido sulfúrico con las pentosas y hexosas da furfural o 5-(hidroximetil)-furfural. Estos furfurales se condensan con  $\alpha$ -naftol formando cromógenos, que con el ácido sulfúrico dan compuestos quinoideos de color violeta.
- Cloruro férrico para fenoles y ácidos hidroxámicos. Los fenoles reaccionan con el tricloro de hierro ( $\text{FeCl}_3$ ) para dar sales ferricas fenoxídicas coloreadas (azul-verde – violeta). Los ácidos hidroxámicos presentan coloración roja.
- Reactivo de gelatina-sal para taninos. Ocurre la hidrólisis del tanino dando un compuesto fenólico y un azúcar.

- Ninhidrina para aminoácidos, sales de amonio y anilina. Los alfa aminoácidos en solución acuosa calentados en presencia de ninhidrina producen un color azul- violeta. La ninhidrina reacciona con el aminoácido formando una base de schiff, la que se descompone liberando anhídrido carbonico, dando el 2-amono-1,3-dicetohidrindeno y un aldehído. La aminodicetona (a un pH adecuado) se condensa con la ninhidrina dando un producto coloreado.
- Prueba de shinoda para flavonoides. Los flavonoides al ser tratados con acido clorhídrico y magnesio dan complejos coloreados (de rojo a pálido a oscuro). Al añadir un poco de alcohol isoamilico y agitar, el color pasa a la capa isoamilica.
- Reactivo de Bornträger para naftoquinonas, antraquinonas, antronas o antranoles. Las soluciones bencénicas de naftoquinonas, antraquinonas, antronas o antranoles son amarillas y colorean de rojo las soluciones alcalinas. La presencia de varios hidroxilos o dobles enlaces conjugados tienen un efecto batocrómico.
- El reactivo de Fehling, es una disolución descubierta por el químico alemán Hermann von Fehling y que se utiliza como reactivo para la determinación de azúcares reductores. El licor de Fehling consiste en dos soluciones acuosas: Sulfato cúprico cristalizado, Sal de Seignette (tartrato mixto de potasio y sodio), Ambas se guardan separadas hasta el momento de su uso para evitar la precipitación del hidróxido de cobre (II). El ensayo con el licor de Fehling se fundamenta en el poder reductor del grupo carbonilo de un aldehído. Éste se oxida a un ácido carboxílico y reduce la sal de cobre (II) en medio alcalino a óxido de cobre (I), que forma un precipitado de color rojo. Un aspecto importante de esta reacción es que la forma aldehído puede detectarse fácilmente aunque exista en muy

pequeña cantidad. Si un azúcar reduce el licor de Fehling a óxido de cobre (I) rojo, se dice que es un azúcar reductor.

- Reactivo de dragendorff para alcaloides y aminas terciarias. Formación de yoduro doble colorido y en algunos casos insoluble, de formula general  $BiI_3 \cdot B \cdot HI$ , donde B es la molécula de alcaloide.
- Reactivo de Mayer para alcaloides. Precipitación con un ion grande, formación de un yoduro doble, de formula general  $HgI_2 \cdot B \cdot HI$ , donde B es la molécula de alcaloide ( precipitado blanco).
- Prueba de la espuma para esteroides y saponinas triterpenoides. Las saponinas tienen la propiedad de disminuir la tensión superficial de la agua por lo que sus soluciones acuosas producen espuma, de manera similar al jabón.

### 2.2.2. Antioxidantes

Los Antioxidantes son compuestos los cuales pueden inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas inhibiendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres. Los antioxidantes se dividen en dos categorías principalmente que son: sintéticos y naturales. En general los antioxidantes sintéticos son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquílica, mientras que los antioxidantes naturales pueden ser: compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminas) o carotenoides así como el ácido ascórbico. Los antioxidantes sintéticos como el BHA y BHT (Butil – hidroxianisol y Butil - hidroxitolueno) han sido utilizados como antioxidantes desde principios del siglo pasado. Sin embargo, se han impuesto medidas de precaución y se ha restringido su uso debido a su carcinogenicidad. Debido a esto, el

interés por los antioxidantes naturales se ha incrementado considerablemente ya que la capacidad de actuar como antioxidante se ha demostrado en el laboratorio y mencionado en la literatura.

Muchos antioxidantes naturales, en especial los flavonoides, muestran un amplio rango de efectos biológicos incluyendo funciones antibacteriales, antivirales, antiinflamatorias, antialérgicas, antitrombóticas y vasodilatadores. Una terapia antioxidante provee una alternativa barata para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo ya que se ha demostrado el efecto antioxidante de productos naturales provenientes de las plantas. La actividad antioxidante y su relación con la propiedad curativa de una gran cantidad de plantas medicinales ha sido reportada en diversas investigaciones. Existe muchos métodos para medir la capacidad antioxidante de una especie o sustancia, un método muy usado se basa en la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) la cual se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado, esta deslocalización también le otorga una coloración violeta caracterizada por una banda de absorción, en solución etanólica, centrada alrededor de 520 nm . Cuando una disolución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical (R.) se produce la forma reducida DPPH-H ó DPPH-R con la consecuente pérdida del color y por lo tanto la pérdida de la absorbancia.<sup>24</sup>

#### **A. Antioxidantes en alimentos**

En el organismo se produce un equilibrio entre oxidantes/antioxidantes, cuando este equilibrio se rompe a favor de los oxidantes se produce un estrés oxidativo el cual

está implicado en muchos procesos fisiopatológicos, por tanto, es de vital importancia el consumo de alimentos que contengan antioxidantes naturales y de esta manera se pueda mantener el equilibrio entre oxidantes/antioxidantes o incluso esté a favor de los antioxidantes. Además, si tenemos en cuenta que durante la vida se produce un equilibrio entre oxidantes y antioxidantes, y a medida que el individuo envejece dicho balance está a favor de los oxidantes, es de vital importancia un consumo de alimentos ricos en antioxidantes naturales para contrarrestarlos.<sup>25</sup>

## **B. Antioxidantes indispensables para la salud**

En los últimos años ha cobrado especial interés, el estudio de la actividad biológica de los polifenoles y en especial la evaluación de la capacidad antioxidante asociada a ellos. Los polifenoles en vegetales, frutas y té pueden prevenir enfermedades degenerativas, incluyendo cánceres, con la acción antioxidante.<sup>6</sup>

El cáncer y las enfermedades cardiovasculares son las principales causas de muertes en la civilización occidental. Numerosas investigaciones epidemiológicas y estudios experimentales han demostrado que el aumento en el consumo de frutas y legumbres ayuda en la prevención de muertes por estas enfermedades. El efecto beneficioso de los alimentos vegetales se atribuye principalmente a sustancias con actividad antioxidante, como los compuestos polifenólicos, el ácido ascórbico (vitamina C), los carotenoides y la vitamina E. Se ha sugerido que estas sustancias aumentan la defensa antioxidante del organismo, contra el “estrés oxidativo”, responsable de diferentes tipos de daños celulares.<sup>13</sup>

Los antioxidantes polifenólicos se encuentran comúnmente en vegetales, pero sus concentraciones son más altas en las frutas. El vino tinto, el arándano (*Vaccinium corymbosum*) y la uva de mesa (*Vitis vinifera*) se han promovido mucho como alimentos que previenen la arterosclerosis y el cáncer, por su alto contenido de compuestos polifenólicos. En las regiones tropicales no es costumbre consumir vino y no se cultiva la uva ni el arándano, pero existen muchas variedades de frutas que se consumen directamente o como jugo.<sup>26</sup>

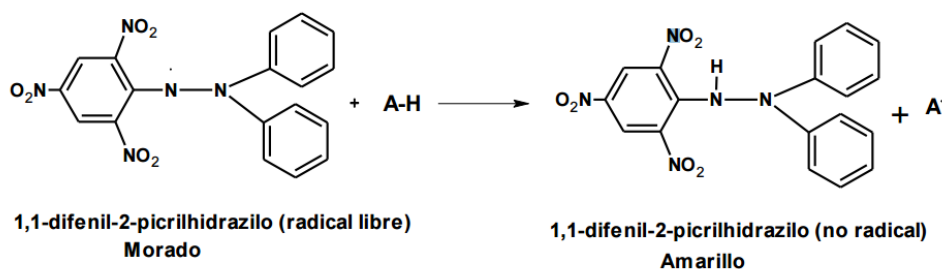
### C. Determinación de la actividad antioxidante

- **Capacidad antioxidante mediante la prueba de DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)**

Este método fue propuesto por Blois (1958) en el cual se demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH para aceptar un átomo de hidrógeno (H) proveniente de una molécula de cisteína. La molécula 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno como se muestra en la figura 8, el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes.<sup>6, 27,28</sup>



**Grafico N°2:** Mecanismo de acción del DPPH con sustancias antioxidantes (RH)



**Fuente:** CIBN (centro de investigación de bioquímica y nutrición). Capacidad atrapadora de radicales libres. Primer curso nacional teórico práctico: Antioxidantes en recursos fitoterapéuticos. Facultad de medicina. Universidad nacional Mayor de San Marcos.2006.

La evaluación de la actividad antioxidante se expresa como porcentaje, y se determina de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\%AA = 100 - \frac{(Am - Ab)}{Acontrol} \times 100$$

Donde,

% AA : Porcentaje de actividad antioxidante

Am: Absorbancia de la muestra

Ab: Absorbancia del blanco

Acontrol: Absorbancia del reactivo DPPH

La relación  $(Am - Ab)/Acontrol$  nos indica el exceso de DPPH que no ha reaccionado con los compuestos antioxidantes en la muestra (muestra pura o extracto).<sup>29</sup>

### 2.2.3. Escherichia Coli

*E. coli* es una de las especies bacterianas más minuciosamente estudiadas, y no solamente por sus capacidades patogénicas, sino también como sustrato y modelo de investigaciones metabólicas, genéticas, poblacionales y de diversa índole (Neidhardt, 1999). Forma parte de la familia Enterobacteriaceae (Ewing, 1985). Ella está integrada por bacilos Gram negativos no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, aerobios-anaerobios facultativos, capaces de crecer en agar Mac Conkey y en medios simples con o sin agregado de NaCl, fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos, catalasa positivos, oxidasa negativos, reductores de nitratos a nitritos, y poseedores de una proporción G+C de 39 a 59% en su DNA. Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales. En conjunto, la importancia de las enterobacterias en patología humana puede cuantificarse constatando que constituyen el 50% aproximadamente de todos los aislamientos clínicamente significativos en los laboratorios microbiológicos, y hasta el 80% de todos los bacilos Gram negativos identificados. Integran también esta familia otros géneros que se consideran en otros capítulos por su asociación con infecciones intestinales, como son Salmonella, Shigella y Yersinia. *E. coli* es la especie tipo del género Escherichia. Incluye gérmenes generalmente móviles, que producen ácido y gas a partir de la glucosa, la arabinosa, y habitualmente de la lactosa y otros azúcares.<sup>30,31</sup>

**Tabla N°:3** Características generales de *E. coli*

| <b>Morfología y tinción</b>    | <b>Bacilos Gram -</b>                 |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| Movilidad                      | Peritricos                            |
| Relación con el O <sub>2</sub> | Aerobios – Anaerobios<br>Facultativos |
| Requerimientos nutricionales   | No exigentes                          |
| Catalasa                       | (+)                                   |
| Oxidasa                        | (-)                                   |
| Nitratos a nitritos            | (+)                                   |
| Glucosa                        | (+)                                   |
| Lactosa                        | (+)                                   |
| Arabinosa                      | (+)                                   |
| Citrato                        | (-)                                   |
| Acetato                        | (+)                                   |
| Ureasa                         | (-)                                   |
| H <sub>2</sub> S               | (-)                                   |
| Fenilalanina                   | (-)                                   |
| Indol                          | (+)                                   |
| Lisina decarboxilasa           | (+)                                   |

**FUENTE:** Okeke IN, Nataro JP. Enteroaggregative *Escherichia coli*.  
Lancet Infect. Dis. Dec. 2001;1(5): 304-313.

### **A. Patogenia**

Las cepas de *Escherichia coli* patógeno entérico, y en particular los enteropatógenos clásicos (EPEC) son la causa principal de diarrea en los países pobres, y llevan a la muerte de cerca de un millón de niños por año.<sup>32</sup>

*E. coli* puede ser causa de enfermedad endógena en pacientes debilitados o en situación de alteración de la pared intestinal (peritonitis, sepsis, etc.), pero las infecciones entéricas provocadas

por este germen no son causadas por las cepas que habitan normalmente el intestino, sino por líneas especialmente patógenas en esta localización (Nataro y Kaper, 1998, Tabla 2), que se transmiten por vía fecaloral de persona a persona o a través del agua y alimentos.<sup>30</sup>

*E. coli* coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño, y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio (Drasar y Hill, 1974). Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se lo considera un germen indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos, junto con otros similares agrupados bajo la denominación de "bacterias coliformes". Estas son enterobacterias que pertenecen al género *Escherichia* y a otros relacionados como *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* o *Serratia*, y que tienen en común la capacidad de fermentar la lactosa en un lapso no mayor de 48 horas, con producción de ácido y gas. Son gérmenes de gran ubicuidad y capacidad de proliferación, y a la vez de fácil cultivo e identificación, y por lo tanto muy útiles como indicadores de contaminación, pero no son enteropatógenos como grupo (como tampoco lo es *E.coli*), y por lo tanto su presencia en alimentos, ambiente o pacientes no certifica la etiología de una infección intestinal o un brote de ETA.<sup>32,33</sup>

#### **2.2.4. Staphylococcus aureus**

*Staphylococcus aureus*, conocido como estafilococo áureo, o comúnmente estafilococo dorado, es una bacteria anaerobia facultativa, gran positiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas, por ella.

Puede producir una amplia gama de enfermedades, que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas relativamente benignas, tales como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis, hasta enfermedades de riesgo vital, como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía. Además, también puede afectar al aparato gastrointestinal, ya sea por presencia física de *Staphylococcus aureus* o por la ingesta de la enterotoxina estafilocócica secretada por la bacteria.<sup>34</sup>

En la actualidad, este microorganismo se encuentra como el principal causante de las infecciones nosocomiales. Esta situación se ve favorecida por el hecho de que esta especie habita tanto en las mucosas como en la piel de los seres humanos, lo que permite que a través de las heridas quirúrgicas pueda penetrar en el torrente sanguíneo del paciente por medio del contacto directo o indirecto con el personal sanitario, con un objeto contaminado o incluso con otro paciente.<sup>35</sup>

## **A. Patogenia**

*S. aureus* es un patógeno piógeno conocido por su capacidad de formar abscesos en los focos de infección tanto locales como metastásicos. Esta respuesta patológica clásica a *S. aureus* define el marco dentro del que evolucionará la infección. Las bacterias de este tipo desencadenan una reacción inflamatoria que se caracteriza al principio por una respuesta intensa de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y una infiltración ulterior de macrófagos y fibroblastos. Si la respuesta celular del hospedador (incluido el depósito de fibrina y colágena) no frena la infección, ésta se propaga a los tejidos vecinos o al torrente circulatorio.<sup>36</sup>

Generalmente la adquisición puede ser exógena o endógena. La transmisión exógena puede llevarse a cabo a través de la contaminación de tejido traumatizado (heridas o quemaduras); a través de la introducción al tejido de material médico contaminado y la ingestión de alimentos o leche contaminados. Por otro lado infección endógena se trata de la entrada de microorganismos desde la piel, a través de fracturas, heridas o cuerpos extraños desde un lugar en donde el microorganismo es comensal. La infección se ve favorecida en cualquier caso, si el paciente es inmunodeprimido, tiene diabetes, malnutrición o cursa una terapia antibiótica de amplio espectro.<sup>37</sup>

### **2.2.5. Los Antibiogramas**

Los antibiogramas son métodos in vitro que determinan la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específica y estandarizada. La meta principal del estudio de susceptibilidad es proveer al clínico algunas recomendaciones sobre la terapia que puede ser más apropiada en pacientes con una infección específica. No obstante, la correlación exacta entre los resultados in vitro y la respuesta clínica es muchas veces difícil de predecir, ya que existen numerosos factores que influyen la interacción de los agentes antimicrobianos y los microorganismos en un determinado paciente.

La metodología usada para realizar el antibiograma toma en consideración algunos de estos factores para determinar más eficientemente cómo un microorganismo podría responder in vivo a un determinado antibiótico.

Existen diversos métodos para determinar la sensibilidad bacteriana a los antibióticos, presentando además cada uno de estos métodos, múltiples variantes. Cualquiera que sea el método

seleccionado, el medio de cultivo a emplear ha de ser aquel que permita un buen desarrollo del microorganismo cuya sensibilidad se determina y además no debe ejercer ningún efecto inhibitor sobre la actividad antibacteriana de los antibióticos o quimioterápicos ensayados. De los métodos existentes, el más popular es el del disco de papel. La variante más utilizada de este método es la de Kirby Bauer, la cual consiste en utilizar una sola concentración de antibiótico y medir el tamaño de la zona de inhibición.<sup>38</sup>

**Tabla 4.** Interpretación del método de KIRBY BAUER

| Agente antimicrobiano                         | Contenido del disco | Diámetro de la zona de inhibición en mm |            |                   |
|---|---------------------|---|------------|-------------------|
|   |                     | Resistente<br>< 0 =                     | Intermedio | Sensible<br>> 0 = |
| <b>BETALACTÁMICOS, PENICILINAS</b>            |                     |   |            |                   |
| Ampicilina <i>Enterobacteriaceae</i>          | 10 µg               | 13                                      | 14-16      | 17                |
| Ampicilina Estafilococos                      | 10 µg               | 28                                      | ----       | 29                |
| Oxacilina Estafilococos                       | 1 µg                | 10                                      | 11-12      | 13                |
| Penicilina G Estafilococos                    | 10 U                | 28                                      | ---        | 29                |
| Penicilina <i>Streptococcus β</i> hemolíticos | 10 U                | 19                                      | 20-27      | 28                |
| Penicilina Enterococos                        | 10U                 | 14                                      | ---        | 15                |
| <b>COMBIN. CON INHIBIDORES B-LACTAMASA</b>    |                     |   |            |                   |
| Amoxicilina / Acido Clavulánico Estafilococos | 20/10 µg            | 19                                      | ---        | 20                |
| Amoxicilina / <i>Enterobacteriaceae</i>       | 20/10 µg            | 13                                      | 14-17      | 18                |
| Ampicilina / Sulbactama                       | 10/10 µg            | 11                                      | 12-14      | 15                |
| Piperacilina / Tazobactama Enterobacterias    | 100/10 µg           | 17                                      | 18-20      | 21                |
| Piperacilina / <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | 100/10 µg           | 17                                      | ---        | 18                |
| <b>CEFALOSPORINAS</b>                         |                     |   |            |                   |
| Cefaclor                                      | 30 µg               | 14                                      | 15-17      | 18                |
| Cefazolina                                    | 30 µg               | 14                                      | 15-17      | 18                |
| Cefepima                                      | 30 µg               | 14                                      | 15-17      | 18                |
| Cefixima                                      | 5 µg                | 15                                      | 16-18      | 19                |
| Cefoperazona                                  | 75 µg               | 15                                      | 16-20      | 21                |
| <b>QUINOLONAS</b>                             |                     |   |            |                   |
| Ciprofloxacina                                | 5 µg                | 15                                      | 16-20      | 21                |
| Fleroxacina                                   | 5µg                 | 15                                      | 16-18      | 19                |
| Nalidixico Ácido                              | 30 µg               | 13                                      | 14-18      | 19                |
| Norfloxacina                                  | 10 µg               | 12                                      | 13-16      | 17                |
| Ofloxacina                                    | 5 µg                | 12                                      | 13-15      | 16                |
| Trovafloxacina                                | 10 µg               | 13                                      | 14-16      | 17                |
| <b>CARBAPENEMS</b>                            |                     |   |            |                   |
| Imipenem                                      | 10 µg               | 13                                      | 14-15      | 16                |
| Meropenem                                     | 10 µg               | 13                                      | 14-15      | 16                |
| <b>MONOBACTAMAS</b>                           |                     |   |            |                   |
| Aztreonam                                     | 30 µg               | 15                                      | 16-21      | 22                |
| <b>Glicopéptidos</b>                          |                     |   |            |                   |
| Teicoplanina                                  | 30 µg               | 10                                      | 11-13      | 14                |
| Vancomicina enterococos                       | 30 µg               | 14                                      | 15-16      | 17                |
| Vancomicina estafilococos                     | 30 µg               | ---                                     | ---        | 15                |
| <b>AMINOGLUCÓSIDOS</b>                        |                     |   |            |                   |
| Amicacina                                     | 30 µg               | 14                                      | 15-16      | 17                |
| Gentamicina                                   | 10 µg               | 12                                      | 13-14      | 15                |
| Kanamicina                                    | 30 µg               | 13                                      | 14-17      | 18                |
| Netilmicina                                   | 30 µg               | 12                                      | 13-14      | 15                |
| <b>MACRÓLIDOS</b>                             |                     |   |            |                   |
| Azitromicina                                  | 15 µg               | 13                                      | 14-17      | 18                |
| Claritromicina                                | 15 µg               | 13                                      | 14-17      | 18                |
| Eritromicina                                  | 15 µg               | 13                                      | 14-22      | 23                |

**FUENTE:** Comité Nacional de Laboratorios Clínicos Estándar de los Estados Unidos de Norteamérica (National Committee for Clinical Laboratory Standards) NCCLS.



**Tabla 5.** Patrones estándar del halo de inhibición para la cepa *E. coli* ATCC25922 empleada como control de calidad

| Antimicrobiano | Carga del disco (µg) | Diámetro del halo de inhibición (mm) |            |          |
|----------------|----------------------|--------------------------------------|------------|----------|
|                |                      | Resistente                           | Intermedia | Sensible |
| Ampicilina     | 10                   | ≤13                                  | 14 -16     | ≥17      |
| Cefalotina     | 30                   | ≤14                                  | 15 -17     | ≥18      |
| Cefazolina     | 30                   | ≤14                                  | 15-17      | ≥18      |
| Gentamicina    | 10                   | ≤12                                  | 13-14      | ≥15      |
| Cefoxitina     | 30                   | ≤14                                  | 15 -17     | ≥18      |
| Cefotetan      | 30                   | ≤12                                  | 13 -15     | ≥16      |
| Cefmetazol     | 30                   | ≤12                                  | 13 -15     | ≥16      |
| Cefoperazona   | 75                   | ≤15                                  | 16 -20     | ≥21      |
| Cefotaxima     | 30                   | ≤14                                  | 15 -22     | ≥23      |
| Ceftizoxima    | 30                   | ≤14                                  | 15 -19     | ≥20      |
| Ceftriaxona    | 30                   | ≤13                                  | 14 -20     | ≥21      |
| Cefepima       | 30                   | ≤14                                  | 15 -17     | ≥18      |
| Imipenem       | 10                   | ≤13                                  | 14 -15     | ≥16      |
| Meropenem      | 10                   | ≤13                                  | 14 -15     | ≥16      |
| Amikacina      | 30                   | ≤14                                  | 15 -16     | ≥17      |
| Ciprofloxacino | 5                    | ≤15                                  | 16 -20     | ≥21      |
| Levofloxacino  | 5                    | ≤13                                  | 14 -16     | ≥17      |

**FUENTE:** Comité Nacional de Laboratorios Clínicos Estándar de los Estados Unidos de Norteamérica (National Committee for Clinical Laboratory Standards) NCCLS.

**Tabla 6.** Patrones estándar del halo de inhibición para la cepa *S. aureus* ATCC 25923 empleada como control de calidad

| Antimicrobiano               | Carga del disco (µg) | Diámetro del halo de inhibición (mm) |            |          |
|------------------------------|----------------------|--------------------------------------|------------|----------|
|                              |                      | Resistente                           | Intermedia | Sensible |
| Vancomicina                  | 30                   | ---                                  | ---        | ≥15      |
| Teicoplanina                 | 30                   | ≤11                                  | 11 -13     | ≥14      |
| Eritromicina                 | 15                   | ≤13                                  | 14-22      | ≥23      |
| Claritromicina               | 15                   | ≤13                                  | 14-17      | ≥18      |
| Azitromicina                 | 15                   | ≤13                                  | 14-17      | ≥18      |
| Clindamicina                 | 2                    | ≤14                                  | 15 -20     | ≥21      |
| Trimetoprim / sulfametoxazol | 1,25/23,75           | ≤10                                  | 11 -15     | ≥16      |
| Gentamicina                  | 10                   | ≤12                                  | 13 -14     | ≥15      |
| Ciprofloxacino               | 5                    | ≤15                                  | 16 -20     | ≥21      |
| Ofloxacino                   | 5                    | ≤12                                  | 13 -15     | ≥16      |
| Levofloxacino                | 5                    | ≤13                                  | 14 -16     | ≥17      |
| Cloranfenicol                | 30                   | ≤12                                  | 13 -17     | ≥18      |
| Rifampicina                  | 5                    | ≤16                                  | 17 -19     | ≥20      |
| Tetraciclina                 | 30                   | ≤14                                  | 15 -18     | ≥19      |
| Norfloxacino                 | 10                   | ≤12                                  | 13-16      | ≥17      |
| Lomefloxacino                | 10                   | ≤18                                  | 19-21      | ≥22      |
| Nitrofurantoina              | 300                  | ≤14                                  | 15-16      | ≥17      |
| Sulfisoxazol                 | 250 o 300            | ≤12                                  | 13-16      | ≥17      |
| Trimetoprim                  | 5                    | ≤10                                  | 11-15      | ≥16      |
| Penicilina G                 | 10U                  | ≤18                                  | ---        | ≥29      |

**FUENTE:** Comité Nacional de Laboratorios Clínicos Estándar de los Estados Unidos de Norteamérica (National Committee for Clinical Laboratory Standards) NCCLS.

## 2.2.6. Estudio Microbiológico<sup>22,35</sup>

Se realizó mediante el método de difusión en agar, mediante la técnica excavación de pocitos de 6mm de diámetro. Según (Kirby – Bauer) este método fue utilizado para determinar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de guanábana.

### Procedimiento

- **Preparación de los inoculos;** las cepas correspondientes a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* de no más de 16 horas de incubación fueron suspendidas en suero fisiológico estéril hasta alcanzar una concentración equivalente a 0.5 de la escala de Mac Farland.
- **Reconstitución del extracto seco:** se preparó una solución stock a razón de 100mg ml<sup>-1</sup> en etanol 70% a partir de esta concentración se prepararon las diluciones siguientes 25mg/mL, 50mg/mL y 75mg/mL .
- **Preparación del medio de cultivo:** luego de la preparación del agar (TSA) de acuerdo con las indicaciones del fabricante se inoculó las suspensiones de microorganismos de prueba cuando la temperatura del agar alcanzó a 45°C y se distribuyó en las placas.
- **Actividad antibacteriana:** en condiciones de suma esterilidad se procedió a sembrar por incorporación o vertido en la placa.

Se utilizó como control negativo 100uL de etanol al 70% y como control positivo discos de ciprofloxacino.

### 2.3. Definición de Términos Básicos <sup>11, 17,18</sup>

- **Antibacteriano:** El término se refiere a una sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que las porta.
- **Actividad biocida:** se define como la capacidad que posee un fármaco o compuesto natural de inhibir el crecimiento de microorganismos.
- **Antioxidante:** Compuesto químico que el cuerpo usa para eliminar los radicales libres sobrantes.
- **Acetogeninas:** Son una clase de policétidos, productos naturales encontrados en las plantas de la familia Annonaceae. Se caracterizan por cadenas lineales de 32 o 34 carbonos que contienen grupos funcionales oxigenados incluyendo hidroxilos, cetonas, epóxidos, tetrahidrofuranos y tetrahidropiranos.
- **Concentración Inhibitoria Mínima:** Se define como la concentración mínima del agente antimicrobiano que es capaz de inhibir el crecimiento del microorganismo.
- **Concentración Bactericida mínima:** Se define como la menos concentración del antimicrobiano estudiado capaz de destruir un inóculo de 10<sup>5</sup> bacterias en 1 ml de medio de cultivo tras 24 horas de incubación
- **Fenoles:** Los fenoles o compuestos fenólicos son compuestos orgánicos en cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol, un anillo aromático unido a al menos un grupo funcional.
- **Farmacocinética:** Es la rama de la farmacología que estudia los procesos a los que un fármaco es sometido a través de su paso por el organismo. Trata de dilucidar qué sucede con un fármaco desde el momento en el que es administrado hasta su total eliminación del cuerpo.

- **Inmunodepresión:** Situación general patológica del organismo, espontánea o provocada, en la que hay una disminución de las defensas del sistema inmunológico.
- **Lactonas:** Una lactona es un compuesto orgánico del tipo éster cíclico. Se forma como producto de la condensación de un grupo alcohol con un grupo ácido carboxílico en una misma molécula.

## **CAPÍTULO III**

### **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.1. Tipo de Investigación**

Aplicada

#### **3.2. Nivel de Investigación**

Descriptiva y explicativa:: busca identificar las propiedades del producto a estudiar, o cualquier otro fenómeno que se mida en cada uno de sus propiedades independientemente, para así describir lo que se desea investigar.

#### **3.3. Método de Investigación**

Deductivo por tener una visión completa de sus principales características.

#### **3.4. Diseño de Investigación**

No experimental: Porque no se influye en las variables para medir el efecto solo se describe el fenómeno.

#### **3.5. Población y Muestreo de la Investigación**

##### **3.5.1 Población:**

Conjunto de semillas del fruto de la guanábana que se comercializa en el mercado central San Camilo de la ciudad de Arequipa.

### 3.5.2 Muestra.

Se emplearòn aproximadamente 300 gramos de las semillas del fruto de la guanábana que fueròn adquiridas en el mercado central San Camilo de la ciudad de Arequipa.

### 3.6. Variables e Indicadores

Tabla N° 7: Variables e indicadores

| VARIABLES                         |   | Indicadores   |
|-----------------------------------|---|---|
| <b>Variable Independiente (Y)</b> | Efecto del extracto etanólico de las semillas <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).                      | ▪ Presencia de metabolitos con actividad antioxidante y antibacteriana. |
| <b>Variable Dependiente (X)</b>   | Actividad antioxidante del extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L. (guanábana).   | ▪ % de captación del radical DPPH y capacidad antioxidante.             |
|                                   | Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L. (guanábana). | ▪ Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano (mm).      |

Fuente: Elaboración propia.

### **3.7. Procedimiento, Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos:**

#### **3.7.1 Procedimiento**

##### **A) Identificación taxonómica de la muestra.**

La identificación taxonómica se realizó en el Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional De San Agustín. (Ver Adjunto 1)

##### **B) Preparación y acondicionamiento de la muestra.**

- Selección de semillas: se apartaron las semillas enfermas de las aparentemente sanas.
- Secado: bajo sombra a temperatura ambiente.
- Molido: Se realizó en un mortero de porcelana, en donde se fraccio el material vegetal logrando uniformidad.
- Conservación: En frascos limpios secos de color ámbar con tapa hermética.

##### **C) Preparación del extracto etanólico**

- Maceración: Se colocó 300 gramos de semillas molidas en un litro de etanol al 70% y se dejó a maceración por 15 días a temperatura ambiente.
- Filtrado y Evaporación: El macerado fue filtrado (Papel filtro N°3), se le adicionó solución de Buffer Fosfato para equilibrar el pH del extracto para que sus principios activos no sean alterados y posteriormente se llevó a evaporación a una temperatura no mayor a 37°C.



#### **D) Marcha fitoquímica del extracto**

Se realizó la marcha fitoquímica del extracto etanólico de las semillas de guanábana según metodología estándar.

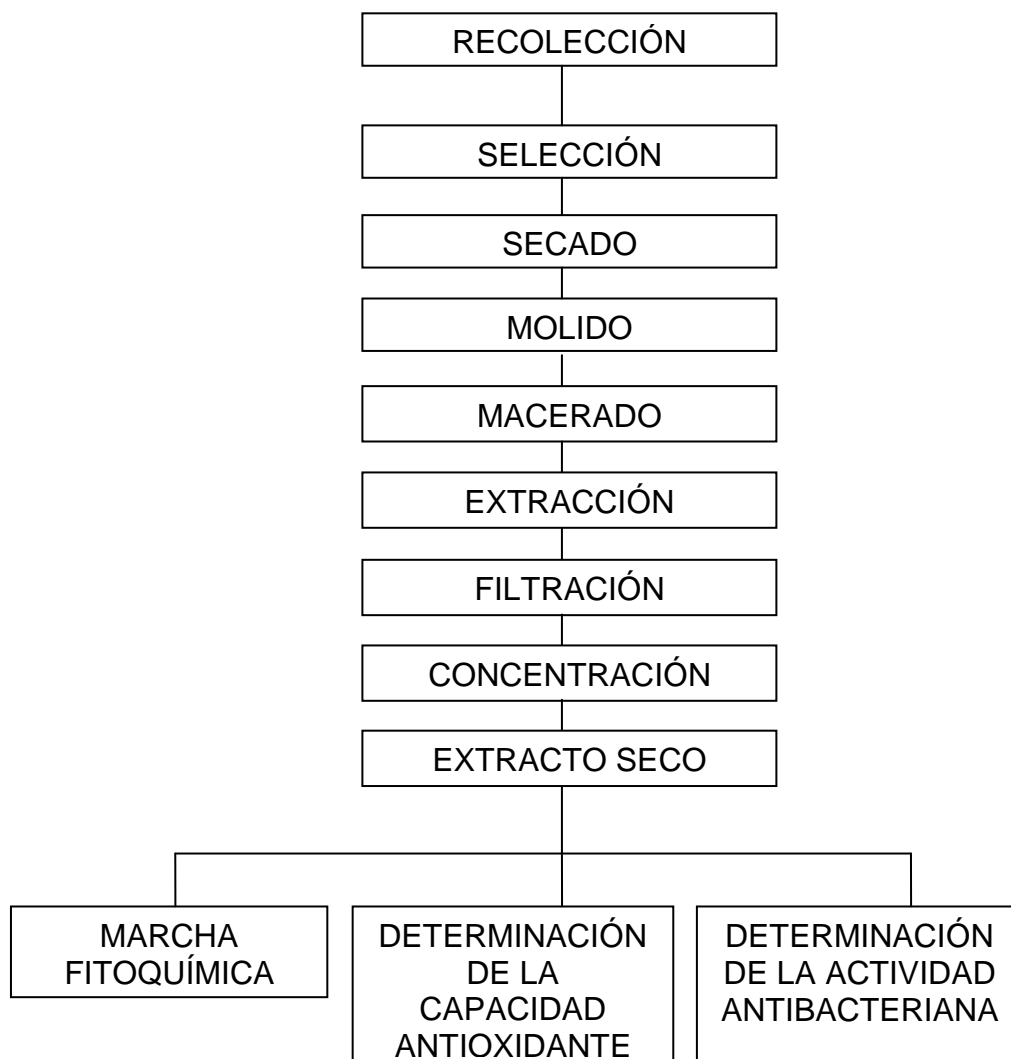
#### **E) Determinación de la actividad antioxidante**

Este ensayo fue realizado en el Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (Ver adjunto 2)

#### **F) Determinación de la actividad antibacteriana**

Este ensayo fue realizado en el Centro de Control Analítico CENPROFARMA de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (Ver Adjunto 3)

**Grafico N° 3.** Flujograma del trabajo experimental



**Fuente:** elaboración propia

### 3.7.2 Técnicas

- Experimentales
- Bibliográficas
- Observacionales

**3.7.3. Instrumentos:** Ficha de recolección de datos.

## CAPÍTULO IV

### PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 Resultados

##### 4.1.1 Estudio Fitoquímico preliminar del extracto etanólico de las semillas de guanábana.

En la tabla N°8 se presentan los resultados del estudio fitoquímico del extracto analizado.

**Tabla N° 8:** Estudio Fitoquímico del extracto etanólico de las semillas de guanábana.

| Reactivo            | Metabolitos secundarios                   | Resultados |
|---------------------|---|------------|
| Reactivo de Molish  | Carbohidratos (azúcares)                  | ++         |
| Cloruro férrico     | Compuestos fenólicos                      | ++         |
| Gelatina            | Taninos                                   | ++         |
| Shinoda             | Flavonoides                               | ++         |
| Bornträger          | Naftoquinonas,<br>antraquinonas, antronas | +          |
| Fehling             | azúcares reductores                       | ++         |
| Dragendorff         | Alcaloides                                | +          |
| Mayer               | Alcaloides                                | +          |
| Prueba de la Espuma | Esteroides y saponinas                    | -          |

**Fuente:** Elaboración propia.

Leyenda:

+++ : Abundante

+ : Trazas

++ : Regular

- : Ausencia

#### 4.1.2 Estudio de la actividad antioxidante del extracto etanólico de las semillas de guanábana.

Los resultados del estudio de la actividad antioxidante se expresan en porcentaje de captación del radical DPPH y capacidad antioxidante equivalentes a trolox (TEAC-DPPH).

**Tabla N°9:** Porcentaje de captación del radical DPPH y capacidad antioxidante equivalentes a trolox

| Muestra  | Absorbancia   |       | % captación antioxidante |      | TEAC-DPPH (µg/mg extracto) |      |
|--|---------------|-------|--------------------------|------|----------------------------|------|
| Extracto etanólico de las semillas de guanábana (2,5mg/mL) | Promedio ± DS |       | Promedio ± DS            |      | Promedio ± DS              |      |
|  | 0.234         | 0.010 | 61.4                     | 1.71 | 1.03                       | 0.05 |

Fuente: Elaboración propia.

#### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 9 se analizó la capacidad antioxidante del extracto, mejor es la actividad antioxidante cuanto mayor es el porcentaje de captación. Se tiene en cuenta que el compuesto de referencia Trolox exhibe un porcentaje de captación del 64.9 con una concentración de 4.2 U<sub>g</sub>/mL y el extracto tiene un 61.4% con 2.5mg/mL.

#### 4.1.3 Estudio de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de guanábana.

En la tabla N° 10 y 11 se muestran los resultados del diámetro de los halos de inhibición del extracto de guanábana frente a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

**Tabla N° 10:** Resultados del estudio de la actividad antibacteriana del extracto de las semillas de guanábana sobre cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739

| Método de Difusión En Placa                     |       |       |       |       |       |       |                                |
|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------------------|
| Halos de inhibición (mm)                        |       |       |       |       |       |       |                                |
|   | A     | B     | C     | D     | E     | F     | PROMEDIO (mm)                  |
| <b>Concentración 25mg/mL</b>                    | 11.37 | 12.11 | 12.54 | 12.07 | 11.58 | 12.37 | 12.01                          |
| <b>Concentración 50mg/mL</b>                    | 18.69 | 18.99 | 18.23 | 18.47 | 17.86 | 17.91 | 18.36                          |
| <b>Concentración 75mg/mL</b>                    | 22.61 | 22.37 | 21.88 | 22.15 | 21.35 | 21.82 | 22.03                          |
| <b>Control (-) Solvente etanol 70%</b>          | -     | -     | -     | -     | -     | -     | No presentó halo de inhibición |
| <b>Control (+) discos de Ciprofloxacino 5ug</b> | 36.75 | 37.16 | 39.84 | 35.29 | 39.70 | 34.70 | 37.24                          |

Fuente: Elaboración propia.

#### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N° 10 se reportan los resultados de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos en el estudio de la actividad antibacteriana del extracto de semillas guanábana sobre *Escherichia coli* ATCC 8739 ( $1 \times 10^8$ UFC/mL) se observa un halo de inhibición mayor a 18mm cuando se usan las concentraciones de 50mg/mL y 75mg/mL y de 12.01mm cuando la concentración del extracto es de 25mg/mL.

**Tabla N° 11:** Resultados del estudio de la actividad antibacteriana del extracto de las semillas de guanábana sobre cepas *Staphylococcus aureus* ATCC6538

| <b>Método de Difusión En Placa</b>                  |          |          |          |          |          |          |                                |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------------------------|
| <b>Halos de inhibición (mm)</b>                     |          |          |          |          |          |          |                                |
|   | <b>A</b> | <b>B</b> | <b>C</b> | <b>D</b> | <b>E</b> | <b>F</b> | <b>PROMEDIO (mm)</b>           |
| <b>Concentración 25mg/mL</b>                        | 13.28    | 15.27    | 14.67    | 13.88    | 13.55    | 14.78    | 14.24                          |
| <b>Concentración 50mg/mL</b>                        | 18.67    | 18.97    | 19.03    | 19.21    | 18.39    | 18.55    | 18.80                          |
| <b>Concentración 75mg/mL</b>                        | 23.43    | 23.11    | 22.57    | 22.78    | 22.98    | 23.15    | 23.00                          |
| <b>Control (-)<br/>Solvente etanol 70%</b>          | -        | -        | -        | -        | -        | -        | No presentó halo de inhibición |
| <b>Control (+)<br/>discos de Ciprofloxacino 5ug</b> | 40.18    | 40.12    | 43.27    | 43.23    | 40.27    | 39.28    | 41.06                          |

**Fuente:** Elaboración propia.

### **ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN**

En la tabla N°11 se reportan los resultados de los diámetros de los halos de inhibición obtenidos del ensayo de la actividad antibacteriana del extracto de semillas de guanábana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ( $1 \times 10^8$  UFC/mL), se observó un halo de inhibición mayor a 18mm cuando se usan las concentraciones de 50mg/mL y 75mg/mL y de 14.24mm cuando la concentración del extracto fue de 25mg/mL.

## DISCUSIÓN

Según la tabla N° 8 se identificaron compuestos fenólicos, alcaloides y saponinas que pueden ser los responsables de la actividad antibacteriana observada esto es respaldado por la investigación de Rodríguez A y colaboradores Mexico 2015. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum var. glabriusculum*). En el cual indican los compuestos fenólicos, alcaloides y saponinas como responsables de la actividad antifúngica y antimicrobiana.

Según la tabla N° 9 el porcentaje de capacidad antioxidante del extracto semillas de guanábana fueron de 61.4 esto es respaldado por la investigación de R. Rojas (2012) donde se analizan el % de capacidad antioxidante de 8 morfotipos en *Bixa Orellana* obteniéndose como promedio 83.7 a una concentración de 2,5 mg/ml de muestra de extracto metanolico, la diferencia puede deberse al tipo de solvente utilizado para nuestro caso fue el etanol.

Según la tabla N° 10 y 11 los halos de inhibición producidos por el extracto de las semillas de guanábana son inferiores a 15mm a la concentración de 25mg/mL, superiores a 18mm a la concentración de 50mg/mL y mayores a 22mm a la concentración de 75mg/mL esto es respaldado por Ayala A. en su investigación titulada Sensibilidad a extractos vegetales de patógenos aislados del hardware de computadoras, en bacterias drogorresistentes reporta un máximo de 15 mm de diámetro del halo de inhibición sobre *Staphylococcus aureus* con el extracto de la corteza de la guanábana y por el Comité Nacional de Laboratorios Clínicos Estándar de los Estados Unidos de Norteamérica que indican a ciprofloxacino en 5 ug produce un halo de inhibición de:  $\leq 15$ mm (resistente), 16 -20mm (intermedia) y  $\geq 21$ mm (sensible) sobre *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

## CONCLUSIONES

1. Los compuestos fitoquímicos identificados en el extracto etanólico de las semillas de guanaba fueron compuestos fenolicos, taninos, flavonoides y azucars reductores en regular presencia; alcaloides y naftaquinonas solo se observo trazas
2. El extracto etanólico de las semillas de guanábana (*Annona muricata*) a una concentración de 2,5mg/mL presento una capacidad antioxidante equivalente a trolox de 1.03ug/mg.
3. La actividad antibacteriana de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) frente a cepas ATCC 8739 de *Escherichia coli* fue mayor de 18 mm a una concentración de 50mg/mL y 75mg/mL y una débil actividad antibacteriana a una concentración de 25 mg/ml con un halo de inhibición de 12 mm.
4. La actividad antibacteriana de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) frente a cepas ATCC 6538 de *Staphylococcus aureus* fue mayor de 18 mm a una concentración de 50mg/mL y 75mg/mL y una débil actividad antibacteriana a una concentración de 25 mg/ml con un halo de inhibición de 14 mm.



## RECOMENDACIONES

1. Debido a los resultados prometedores obtenidos en la investigación se sugiere, continuar investigando las semillas de guanábana de tal manera de brindarle un valor agregado.
2. Evaluar la actividad biológica de los extractos de las hojas, flores, tallo y raíz de la *A. muricata* L. para elegir los extractos con mayor actividad para su aplicación.
3. Realizar la formulación de fitofármacos de uso tópico, como una alternativa para el tratamiento de afecciones dermatológicas.
4. Realizar estudios de toxicidad del extracto a fin de determinar una dosis adecuada

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Prevención y causa del cáncer. Disponible en <http://www.cancer.gov/espanol/cancer/causasprevencion/riesgo/dieta/hoja-informativa-antioxidantes>. Consultado el 01 de noviembre del 2015, 7:30.
2. Francisco J. Morón R, Morón P, Nodarse R. Valoración de la evidencia científica para recomendar *Annona muricata* L. (guanábana) como tratamiento o prevención del cáncer. Revista Cubana de Plantas Medicinales.2010; 15(3)169-181.
3. Mamani G. Evaluación del efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de *annona muricata* (guanábana) por el método de difusión en placa sobre cepas de *candida albicans* atcc 10231” [Tesis]. Lima: Universidad nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2015.
4. Controversia en torno a los antioxidantes. Disponible en <http://www.nutri-facts.org/esp/opinion-de-losexpertos/detalle/backPid/598/article/la-controversia-en-torno-a-los-antioxidantes-y-los-prooxidantes/>. Consultado el 08 de noviembre del 2015, 7:50.
5. Julián Loaeza Adriana. Propiedades físicas y químicas de tres variedades del fruto de *annona Diversifolia*. Oaxaca, México.2009.
6. Raúl R. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación de polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de *bixa Orellana* [Tesis]. Iquitos: Universidad Nacional De La Amazonía Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2012.
7. Loor Intriago Rodolfo E, Miño Rengiffo Nelson J. Determinación de la capacidad antioxidante de la nuez de macadiana mediante el método dp<sub>ph</sub> , obtención de su aceite aplicando la tecnica soxhlet y sus aplicaciones en los productos alimenticios y cosméticos. Guayaquil, Ecuador 2012.
8. Martínez E, Flórez Y. Obtención y evaluación de extractos bioactivos presentes en semillas de *Annona muricata* de la región

- cafetera. [Tesis].Pereira: Universidad Tecnológica. Facultad De Tecnología; 2010.
9. Poma M, Elizabeth. Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata*. (Guanábana) de Cuzco. Lima, Perú. 2011.
  - 10.Rojas Juan P, Ronceros Sergio G, Palacios O. Evaluación in vitro de la actividad antileishmaniásica del extracto metanólico de siete plantas medicinales.Ciencia e Investigación 2012; 15(2): 90-95.
  - 11.Huamaní M, Ruiz J. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida Albicans* y *Aspergillus Niger* de 10 plantas medicinales de 3 departamentos del Perú [Tesis].Lima: Universidad Nacional De La Amazonía Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2005.
  - 12.Ayala A. Sensibilidad a extractos vegetales de patógenos nosocomiales aislados del hardware de computadoras, con énfasis en bacterias drogorresistentes. Centro de Investigaciones de Recursos Naturales de la Amazonia de la UNAP 2013.
  - 13.Schlie guzmán M, González Esquinca A, Luna Cazáres M. Las acetogeninas de annonaceae: efecto antiproliferativo en líneas celulares neoplásicas. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2009; 8 (4): 245 – 257.
  - 14.Paladino Silvia C, Zuritz Carlos A. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.). Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo.2004; 44 (2):85-93.
  - 15.Taylor L. *Annona muricata*. En Herbal Secrets of the Rainforest. 2nd edición. Austin: Sage Press, Inc.; 2002.
  - 16.Mostacero J. Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. 1er edición. Editora normas legales; 2002.
  - 17.Revista Sierra exportadora. Perfil comercial de la guanábana. Lima, Perú. 2010.

18. Estrella E. Plantas Medicinales Amazónicas: Realidad y Perspectivas Tratado de Cooperación Amazónica: Secretaría Pro Tempore, Lima 1995.
19. Palomino M. efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas [Tesis]. Lima: Universidad Nacional De La Amazonía Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2007.
20. Correa J, Ortiz D. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.) boletín latinoamericano y del caribe de plantas medicinales y aromáticas. 2012; 11 (2): 111 – 126.
21. Rodríguez A, Troncoso R, Sánchez A, González D, Zamora R. Efecto antifúngico de extractos fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum*: Instituto de Ciencias Agrícolas, Revista Argentina de Microbiología. 2015; 47(1):72-77.
22. Pineda C. Efecto antimicrobiano de *Psidium guajava* L. contra *Salmonella typhimurium* en *Cavia porcellus* L. tesis magistral de microbiología [Tesis]. Lima: Universidad nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2013.
23. Lock O. Análisis fitoquímica y el certificado de la marcha fitoquímica. En: instituto nacional de Salud. Lima: INS; 1999 (serie de documentos N°9 ) p 43-52.
24. Muñoz Juárez M, Gutiérrez D. M. Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana glauca*. Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro 2012.
25. Martínez J. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *Heliocarpus terebinthinaceus* [Tesis]. Mexico: Universidad Tecnológica de la Mixteca; 2007.
26. Camones M. Actividad antioxidante y antimicrobiana de los compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Triplaris americana* L. (Tangarana colorada) [Tesis]. Lima:

- Universidad nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2009.
27. Abad J, Velasco D. Estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *piper pubinervulum* c. proveniente de macas [Tesis]. Quito: Universidad politécnica salesiana; 2014.
  28. Muedas G, La Rosa A, Gómez T, Robles R. Evaluación electroquímica de la actividad Antioxidante del extracto alcohólico de la Bauhinia guianensis var. kuntiana Aubl. Rev Soc Quím Perú. 2008; 74 (4): 233-246.
  29. CIBN (centro de investigación de bioquímica y nutrición). Capacidad atrapadora de radicales libres. Primer curso nacional teórico práctico: Antioxidantes en recursos fitoterapeúticos. Facultad de medicina. Universidad nacional Mayor de San Marcos. 2006
  30. Características generales de *Escherichia coli*. Disponible en <http://www.bvsops.org.uy/pdf/coli.pdf> . Consultado el 03 de Marzo del 2016, 9:40.
  31. Donnenberg MS. Pathogenic strategies of enteric bacteria. Nature. 2000; 406(4): 768-774.
  32. Okeke IN, Nataro JP. Enteroaggregative Escherichia coli. Lancet Infect. Dis. Dec. 2001;1(5): 304-313.
  33. Lan R, Lumb B, Ryan D, Reeves PR. Molecular evolution of large virulence plasmid in Shigella clones and enteroinvasive Escherichia coli. Infect. Immun 2012; 69 (3): 6-9.
  34. Mamani L, Luján D. Revista Perfil de sensibilidad y resistencia de Staphylococcus aureus. Experiencia en el Hospital Nacional Hipólito Unanue. 2006; 67(2):120-124.
  35. Rubio M, Romero J, Corral O, Roca V, Picazo J. Bacteriemia por Staphylococcus aureus: análisis de 311 episodios. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1999; 17:56-64.

36. Velazco E, Nieves B, Araque M, Calderas Z. Epidemiología de infecciones nosocomiales por *Staphylococcus aureus* en una unidad de alto riesgo neonatal. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2002; 20:321-325.
37. *Staphylococcus aureus*. Disponible en [http://7staphylococcusaureus.blogspot.pe/2007/11/patogenia\\_14.html](http://7staphylococcusaureus.blogspot.pe/2007/11/patogenia_14.html). Consultado el 06 de Marzo del 2016. 9:30.
38. Comité Nacional de Laboratorios Clínicos Estándar de los Estados Unidos de Norteamérica (National Committee for Clinical Laboratory Standards). MIC testing supplemental tables. Document M100-S10. 2000. NCCLS, Wayne, PA.

# ANEXOS

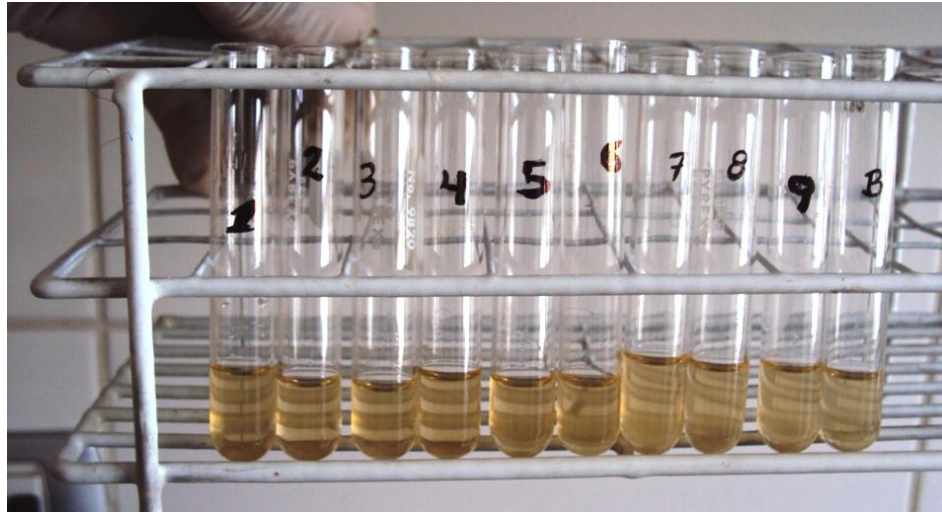
**ANEXO 1**  
**MATRIZ DE CONSISTENCIA**

| <b>PROBLEMA GENERAL:</b><br>¿Presentará actividad antioxidante y antibacteriana el extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana)?   | <b>OBJETIVO GENERAL:</b><br>Determinar las actividades antioxidante y antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana).   | <b>HIPÓTESIS GENERAL:</b><br>El extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) presenta propiedades antioxidantes y antibacterianas.  | <b>TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION</b>   | <b>METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION</b>   | <b>VARIABLES</b>  | <b>POBLACION Y MUESTRA</b>  |
|--|--|--|--|---|---|---|
| <b>Problemas Específicos</b><br><br><b>P.E.1:</b> ¿Qué compuestos fitoquímicos contendrá el extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana)?<br><br><b>P.E.2:</b> ¿Cuál será la capacidad que presente el extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana)?<br><br><b>P.E.3:</b> ¿Cuál será el halo de inhibición bacteriana que produce el extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana) frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> .?<br><br><b>P.E.4:</b> ¿Cuál será el halo de inhibición bacteriana que produce el extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> ? | <b>Objetivos Específicos</b><br><br><b>O.E.1:</b> Identificar los compuestos fitoquímicos del extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L. (guanábana).<br><br><b>O.E.2:</b> Determinar el porcentaje de capacidad antioxidante del extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L. (guanábana).<br><br><b>O.E.3:</b> Determinar el halo de inhibición bacteriana que produce el extracto etanólico las semillas de <i>Annona muricata</i> L. (guanábana) frente a cepas de <i>Escherichia coli</i> .<br><br><b>O.E.4:</b> Determinar el halo de inhibición bacteriana que produce el extracto etanólico las semillas de <i>Annona muricata</i> L. (guanábana) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> . | <b>Hipótesis Específicas</b><br><br><b>H.E.1:</b> El extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana) posee compuestos fitoquímicos antioxidantes y antibacterianos.<br><br><b>H.E.2:</b> El extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana) presenta un porcentaje de capacidad antioxidante.<br><br><b>H.E.3:</b> - El extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana) presenta un halo de inhibición sobre las cepas de <i>Escherichia coli</i> .<br><br><b>H.E.4:</b> El extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L (guanábana) presenta un halo de inhibición sobre las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> . | <b>Tipo de Investigación:</b><br>Aplicativa<br><br><b>Nivel de Investigación:</b><br>Descriptivo: busca identificar las propiedades del producto a estudiar, o cualquier otro fenómeno que se mida en cada uno de sus propiedades independientemente, para así describir lo que se desea investigar. | <b>Método de Investigación:</b><br>Deductivo- por tener una visión completa de sus principales características.<br><br>Determinación de la actividad antirradicalaria con el método del radical DPPH• (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).<br><br>Determinación de la susceptibilidad antibacteriana mediante el método de disco difusión (Kirby – Bauer)<br><br><b>Diseño de Investigación:</b><br>No experimental: Porque no se influye en las variables para medir el efecto solo se describe el fenómeno. | <b>VARIABLES</b><br><b>V.I.:</b> Efecto del extracto etanólico de las semillas <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).<br><b>V.D1.:</b> Actividad antioxidante del extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L. (guanábana).<br><b>V.D2.:</b> Actividad antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de <i>Annona muricata</i> L. (guanábana).<br><b>Indicadores:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Presencia de metabolitos con actividad antioxidante y antibacteriana</li> <li>▪ % de captación del radical DPPH y capacidad antioxidante</li> <li>▪ Diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano (mm).</li> </ul> | <b>Población:</b><br>Conjunto de semillas del fruto de la guanábana que se comercializa en el mercado central San Camilo de la ciudad de Arequipa.<br><br><b>Muestra:</b><br>300 gramos de semillas obtenidas del fruto de la guanaba en perfecto estado de conservación. |



## ANEXOS 2

**Grafico N°4:** Extracto etanólico de guanábana previo al análisis del estudio Fitoquímico preliminar.



**Fuente:** Elaboración propia

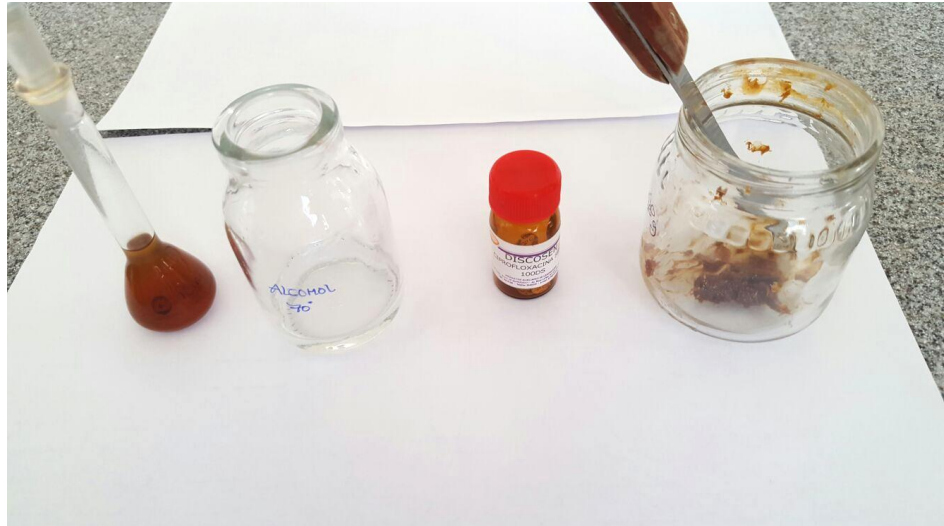
**Grafico N°5:** Extracto etanólico de guanábana después del análisis del estudio Fitoquímico preliminar.



**Fuente:** Elaboración propia

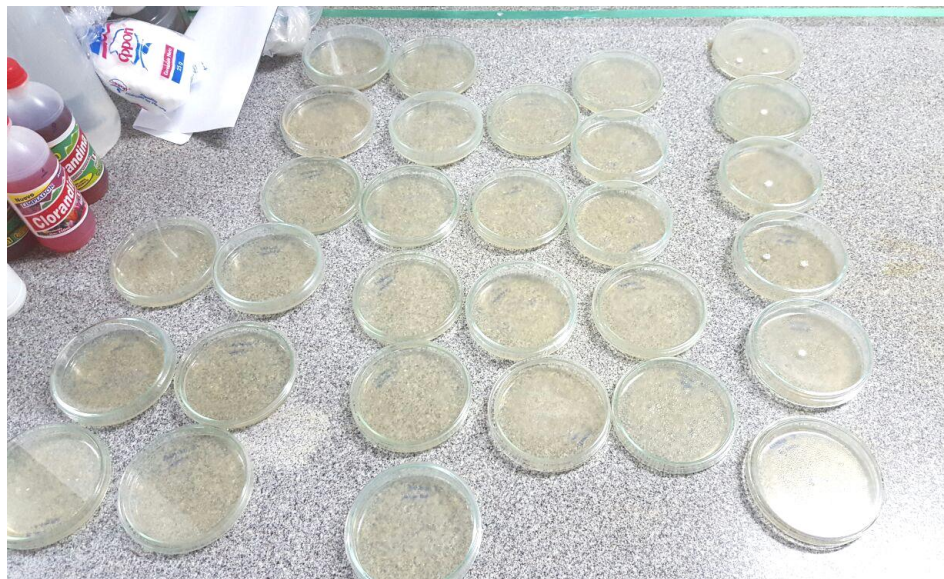
### ANEXOS 3

**Grafico N°6:** Extracto etanólico de guanábana desecado



**Fuente:** Elaboración propia

**Grafico N°7:** Preparación de placas de cultivo



**Fuente:** Elaboración propia

## ANEXOS 4

**Grafico N°8:** *E.coli* (Concentración DE 25 mg/mL)



**Fuente:** Elaboración propia

**Grafico N°9:** *E.coli* (Concentración De 50 mg/mL)

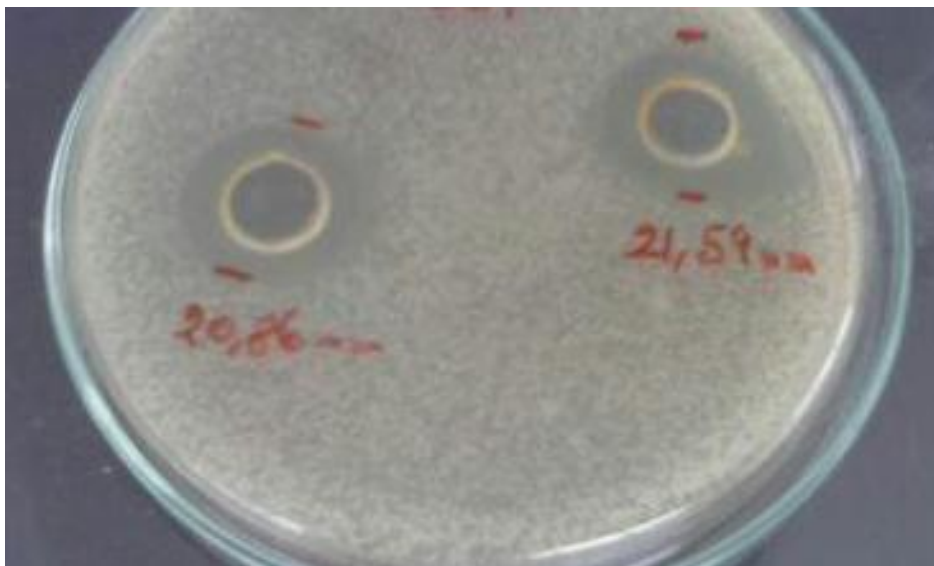


**Fuente:** Elaboración propia



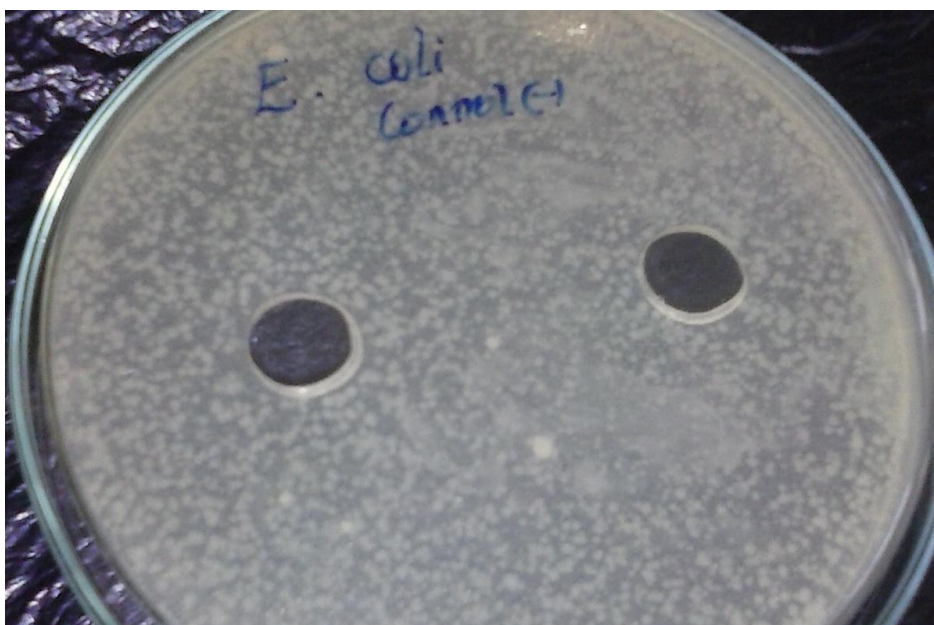
## ANEXOS 5

**Grafico N°10:** *E.coli* (Concentración De 75 mg/mL)



**Fuente:** Elaboración propia

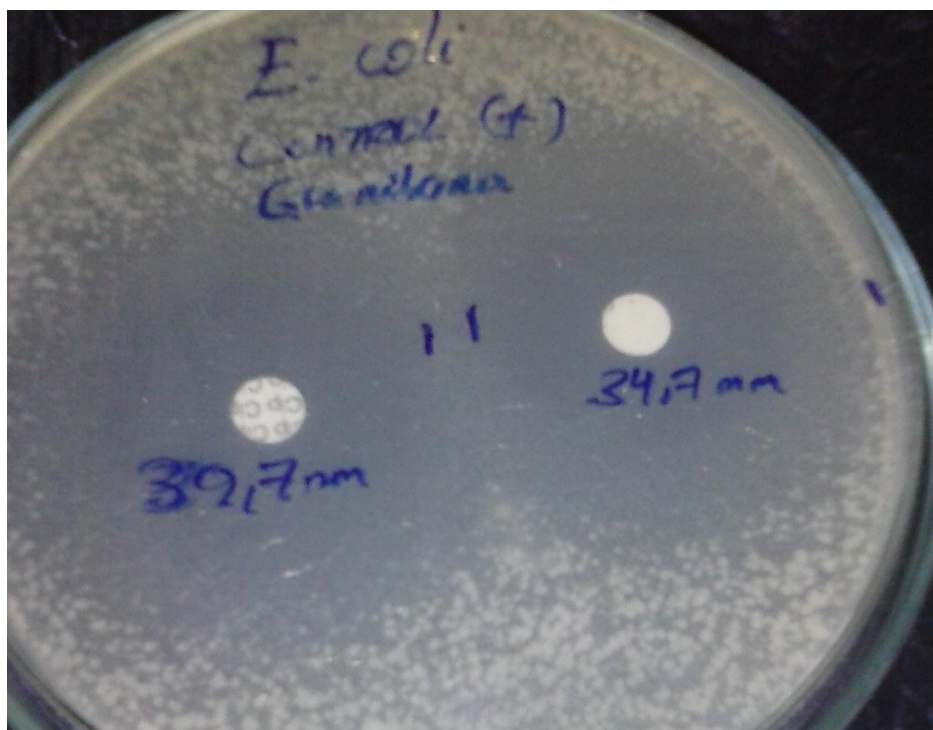
**Grafico N°11:** Control negativo para *E.coli*.



**Fuente:** Elaboración propia

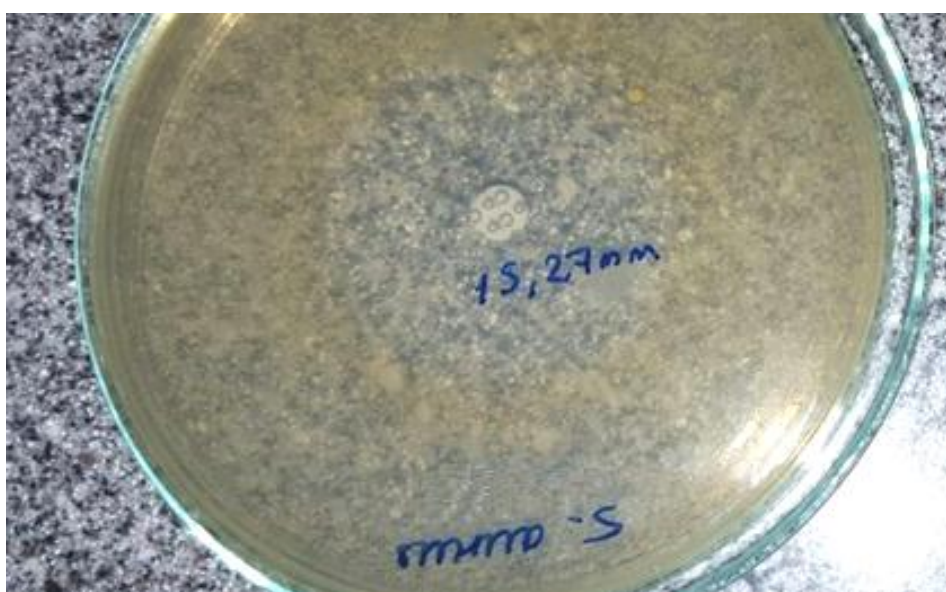
ANEXOS 6

Grafico N°12: Control positivo para *E.coli*.



Fuente: Elaboración propia

Grafico N°13: *Staphylococcus aureus* (concentración de 25 mg/mL)



Fuente: Elaboración propia

**Grafico N°14:** *Staphylococcus aureus* (concentración de 50 mg/mL)



**Grafico N°15:** *Staphylococcus aureus* (concentración de 75 mg/mL)





**Fuente:** Elaboración propia

**Grafico N°16:** Control positivo *Staphylococcus aureus*



**Fuente:** Elaboración propia



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



**CONSTANCIA Nº 01-2016-HUSA**

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

HACE CONSTAR:

Que las semillas y muestra preservada de la planta presentada por el Bachiller David Savitsky Llanque Apaza de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Alas Peruanas. Para la ejecución de su trabajo "Actividad antioxidante y antibacteriana del extracto etanólico de las semillas de guanábana, fueron traídas al Laboratorio de Botánica, procedente de Quillabamba para la determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la especie y clasificación:

**Division:** Magnoliophyta  
**Clase:** Magnoliopsida  
**Subclase:** Magnoliidae  
**Orden:** Magnoliales  
**Familia:** Annonaceae  
**Género:** *Annona*  
**Especie:** *Annona muricata* L.

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen conveniente.

Arequipa 07 de Enero del 2016

  
Blgo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado  
Teléfono: (054) 237755 / 984248674  
Apartado Postal: 0028  
AREQUIPA - PERÚ





### INFORME ANÁLISIS DE UN EXTRACTO DE GUANABANA

Se recibió un extracto de semillas de guanábana al 20% = 200 mg/mL. Se realizaron dos diluciones con agua bidestilada para preparar una concentración final de 7.5 mg/mL que en el tubo de reacción corresponde a una concentración de 2.5 mg/mL. Todos los ensayos se realizaron por duplicado en tres determinaciones independientes.

#### CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE LA PRUEBA CON DPPH:

**Fundamento:** El 2,2 -difenilpicrilhidrazilo (DPPH) es un radical libre estable, presenta una coloración púrpura con absorbancia a 517 nm. Las sustancias atraparoras de radicales libres (donadoras de H) reaccionan con este compuesto y producen la desaparición del color. La lectura inicial del DPPH debe tener una absorbancia de 0.6 + 0.02.

La reacción es seguida midiendo la disminución de la absorbancia a 517 nm.

Los resultados se expresan en porcentaje de captación del radical DPPH y capacidad antioxidante equivalentes a trolox (TEAC-DPPH).

#### Resultados

| Muestra  | mg/ml    | Absorbancia   |       | % capacidad antioxidante |      | TEAC-DPPH (µg/mg extracto) |      |
|----------|----------|---------------|-------|--------------------------|------|----------------------------|------|
|          | Promedio | Promedio ± DS |       | Promedio                 | DS   | Promedio                   | DS   |
| Extracto | 2.5      | 0.234         | 0.010 | 61.4                     | 1.71 | 1.03                       | 0.05 |

**Comentario:** mejor es la actividad antioxidante cuanto mayor es el porcentaje de captación. Pero hay que tener en cuenta la concentración de la muestra que refleja ese porcentaje de captación. En este caso es preciso buscar literatura para compararlo. En todo caso puede tenerse en cuenta que el compuesto de referencia Trolox exhibe un porcentaje de captación del 64.9 con una concentración de 4.2 / µg mL y la muestra analizada tiene un 61.4% con 2.5 mg/mL.

En el caso del TEAC-DPPH, los mayores valores significan mejor capacidad antioxidante equivalente expresada en trolox. En este caso el valor mostrado (1.03) debe ser comparado revisando la literatura.

No se dispone del dato de que parte de la planta se ha trabajado, tampoco si se trata de masa húmeda o seca, por lo tanto solo se reporta como masa (mg de extracto). Debe ser definido por la persona que realizó la extracción.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
FACULTAD DE MEDICINA

Mg. IVONNE ISABEL BERNUI LEO  
DIRECTORA  
Centro de Investigación de Bioquímica  
y Nutrición





# UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

## FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

### PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º000082-CPF-2016



|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>ORDEN DE ANÁLISIS</b>    | : 004054/2016  |
| <b>SOLICITADO POR</b>       | : DAVID SAVITSKY LLANQUE APAZA                       |
| <b>DIRECCIÓN</b>            | : CALLE NUEVA 206 CERCADO - AREQUIPA                 |
| <b>MUESTRA</b>              | : EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS SEMILLAS DE<br>GUANABANA |
| <b>Nº DE LOTE</b>           | : S/LOTE   |
| <b>CANTIDAD</b>             | : 01 Frasco de vidrio x 500mL                        |
| <b>FECHA DE RECEPCIÓN</b>   | : 02 de Febrero del 2016                             |
| <b>FECHA DE FABRICACION</b> | : S/F.Exp.   |
| <b>FECHA DE VENCIMIENTO</b> | : S/F. Venc.   |

### ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

#### Método de Difusión en Placa

#### Halos de inhibición (mm)

| Lectura                                     | PLACA Nº 1 |       | PLACA Nº 2 |       | PLACA Nº 3 |       | RESULTADO (mm)                 |
|---|------------|-------|------------|-------|------------|-------|--------------------------------|
| Concentración 25 mg/mL                      | 11,37      | 12,11 | 12,54      | 12,07 | 11,58      | 12,37 | 12,01                          |
| Concentración 50 mg/mL                      | 18,69      | 18,99 | 18,23      | 18,47 | 17,86      | 17,91 | 18,36                          |
| Concentración 75 mg/mL                      | 22,61      | 22,37 | 21,88      | 22,15 | 21,35      | 21,82 | 22,03                          |
| Control (-)<br>Solvente Etanol 70%          | —          | —     | —          | —     | —          | —     | No presenta halo de inhibición |
| Control (+)<br>Discos de Ciprofloxacino 5ug | 36,75      | 37,16 | 39,84      | 35,29 | 39,70      | 34,70 | 37,24                          |

- Patógeno: *Escherichia coli* ATCC 8739 a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/mL

**Conclusión:** El extracto etanólico al 70% de las semillas de Guanábana presenta un halo de inhibición mayor a 18mm, cuando se usan a las concentraciones de 50mg/mL y 75mg/mL para una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/mL del inóculo de *Escherichia coli* ATCC 8739

Lima, 01 de Marzo del 2016

**Dra. Maria Elena Salazar Salvatierra**  
Directora del Centro de Control Analítico

FCCA-009 R 1

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**



# UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

## FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO

### PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º000083-CPF-2016



**ORDEN DE ANÁLISIS** : 004054/2016  
**SOLICITADO POR** : DAVID SAVITSKY LLANQUE APAZA  
**DIRECCIÓN** : CALLE NUEVA 206 CERCAO - AREQUIPA  
**MUESTRA** : EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS SEMILLAS DE  
 GUANABANA  


---

**Nº DE LOTE** : S/LOTE  
**CANTIDAD** : 01 Frasco de vidrio x 250mL  
**FECHA DE RECEPCIÓN** : 02 de Febrero del 2016  
**FECHA DE FABRICACION** : S/F.Exp.  
**FECHA DE VENCIMIENTO** : S/F. Venc.

| ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS                    |            |       |            |       |            |       |                                |
|---|------------|-------|------------|-------|------------|-------|--------------------------------|
| Método de Difusión en Placa                 |            |       |            |       |            |       |                                |
| Halos de inhibición (mm)                    |            |       |            |       |            |       |                                |
| Lectura                                     | PLACA Nº 1 |       | PLACA Nº 2 |       | PLACA Nº 3 |       | RESULTADO (mm)                 |
| Concentración 25 mg/mL                      | 13,28      | 15,27 | 14,67      | 13,88 | 13,55      | 14,78 | 14,24                          |
| Concentración 50 mg/mL                      | 18,67      | 18,97 | 19,03      | 19,21 | 18,39      | 18,55 | 18,80                          |
| Concentración 75 mg/mL                      | 23,43      | 23,11 | 22,57      | 22,78 | 22,98      | 23,15 | 23,00                          |
| Control (-)<br>Solvente Etanol 70%          | —          | —     | —          | —     | —          | —     | No presenta halo de inhibición |
| Control (+)<br>Discos de Ciprofloxacino 5ug | 40,18      | 40,12 | 43,27      | 43,23 | 40,29      | 39,28 | 41,06                          |

- Patógeno: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/mL

**Conclusión:** El extracto etanólico al 70% de las semillas de Guanábana presenta un halo de inhibición mayor a 18mm, cuando se usan a las concentraciones de 50mg/mL y 75mg/mL, a una concentración de  $1 \times 10^8$  UFC/mL del inóculo de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Lima, 01 de Marzo del 2016

Dra. Maria Elena Salazar Salvatierra  
Directora del Centro de Control Analítico