

# FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

### **TESIS**

# EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, IN VITRO, DEL EXTRACTO ETANOHOLICO DE LAS VAINAS DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) EN CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS

# PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUIMICO FARMACÉUTICO

### **AUTOR:**

Bach. Fernandez Perez, Nelida Lilebet

### **ASESOR:**

Mg. Cano Perez, Carlos Alfredo

### LINEA DE INVESTIGACIÓN:

Recursos Naturales

HUANCAYO – PERÚ 2022

### **DEDICATORIA**

Este presente trabajo va dedicado a Dios, por darme la fortaleza que necesito para seguir luchando para alcanzar mis metas.

A mis padres María y Eugenio que siempre estuvieron dándome fuerzas para continuar y no rendirme hasta lograr mis objetivos anhelados.

Con todo mi cariño y amor para mis amigos y familiares que hicieron todo, por motivarme y darme fuerzas.

**NELIDA FERNANDEZ PEREZ** 

### **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos a la Universidad Privada de Huancayo "Franklin Roosevelt", por haberme brindado la gran oportunidad de desarrollarme, capacitarme para adquirir nuevos conocimientos, formarme como una profesional para poder desempeñarnos en cualquier ámbito, que se nos presente.

Agradecer a los docentes por brindarnos todo su apoyo y brindarnos sus conocimientos y consejos

A nuestros compañeros, por el apoyo brindado en nuestra atapa universitaria, y nos volveremos encontrar en nuestro centro de trabajo.

### PAGINA DEL JURADO

### **DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD:**

Yo, NELIDA FERNANDEZ PEREZ con DNI 41239436 tesista de la universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt con la tesis titulada: "EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, IN VITRO, DEL EXTRACTO ETANOHOLICO DE LAS VAINAS DE CAESALPINIA SPINOSA (TARA) EN CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS" Para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico DECLARO BAJO JURAMENTO QUE TODA LA INFORMACION PRESENTADA ESAUTENTICA Y VERAZ, afirmo y rectifico en lo expresado en señal de la cualfirmo el presente documento.

En este sentido soy consciente de encontrar uso de material intelectual ajeno son el debido reconocimiento de su fuente o autor, me someto a la sanción que determine el procedimiento disciplinario.

# **INDICE**

DEDICATORIA	2
AGRADECIMIENTO	3
PAGINA DEL JURADO	4
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD:	5
INDICE	
RESUMEN	7
ABSTRACT	11
I -INTRODUCCION	
II-METODO	20
2.1 TIPO Y DESEÑO DE INVESTIGACION	20
2.2 OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES	21
2.3 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO	22
2.4.TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	s, validez y confiabilidad <b>.2</b> 3
2.5. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCION DE DATOS	24
2.6 MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS	29
2.7ASPECTOS ÉTICOS	29
III. ANÁLISIS DE RESULTADOS	29
IV DISCUSIÓN	41
V. CONCLUSION.	43
VI. RECOMENDACION	44
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA	45

# INDICE DE TABLA

Tabla 1: Resultados de prueba de solubilidad del extracto etanoholico de las vainas de	
Caesalpinia Espinosa	
"Tara"346	
Tabla 2. Resultado de identificación de maetabolitos secundarios en extracto etanoholico de	
Caesalpinia Espinosa (Tara) <b>4</b>	6
Tabla 3. Resultado de identificación de metabolitos Primarios en extracto etanolico de	
Caesalpinia Espinosa (Tara)46	;
Tabla 4:Comparación de formación de los halos de inhibición en tiempos de 72hrs	9

# INDICE DE FIGURA

Figura 1: Halos de inhibición evidenciados por el extracto tanoholico de las vainas de
caesalpinia espinosa "tara" al 12,5%, 25, 50, 75 y 100% frente al control positivo de la
claritromicina del ensayo microbiológico contra la cepa bacteriana de s. aureus46
Figura 2. Comparación de los porcentaje de inhibición de las concentraciones de extracto
etanoholico de tara con claritromicina46
Figura 3. Comparación del porcentaje de inhibición en la escala de duraffourd a las 72
h. <b>464</b>
Figura 4: Recolección del material vegetal caesalpinia
spinosa (tara) <b>465</b>
Figura 5: Preparación del material vegetal caesalpinia
spinosa (tara) <b>4668</b>
Figura 6: Preparación del extracto acuoso y
etanoholico469
Figura 7: Pruebas de solubilidad en el extracto
etanoholico4670
Figura 8: Cromatografía en capa fina
Figura 9: Espectrofotometría en el uv-vis
Figura 10: Ensayo
microbiológico
Figura 11: Medición de los halos de
inhibición
Figura 12: Resultado final Comparación de los porcentajes de inhibición
PIPHIA 12: RESULTADO HIDAL COMPARACION DE LOS DOFCENIAJES DE INDIDICION

# INDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Mat r i z de consistencia
461
Anexo 2. Juicio de expertos
462
Anexo 3. Identificación taxonomica de caesalpinia espinosa
"TARA"464
Anexo 4: Certificado de calidad de la cepa staphylococoos
aureos4665
Anexo 5: Resultado de espectro fotometría de evaluación de taninos
totales <b>466</b>
Anexo 6: Resultado de espectrofotometría de evaluación de flavonoides
totales467
Anexo 7: Evidencias del trabajo en
campo468

### **RESUMEN**

Este trabajo de investigación sirvió para la evaluar la acción del extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* "Tara" que es una planta a la cual se le atribuye distintas propiedades, Entre las cuales nos encontramos con su poder antimicrobiano. Fue puesto a prueba su efecto antibacteriano en Cepas de *Staphylococcus* Aureus estudios in vitro. Su efecto antimicrobiano también fue comparado frente a la claritromicina, antibiótico utilizado para Cepas de *Staphylococcus* Aureus.

**OBJETIVO.** Determinar la actividad antibacteriana, in vitro, del extracto etanólico de Cesalpino spinosa (tara) en cepas de Staphylococcus aureus.

**METODO.** El tipo de investigación realizada fue aplicada prospectiva con un diseño con dos grupos de control (negativo y positivo). La población correspondio a *Caesalpinia Spinosa* "Tara"

recolectada en el distrito de Churin, departamento de Lima, Perú. Para el estudio se utilizó 500 gr. De vainas las que se secaron, se molieron el polvo se macero en etanol 70 ° C. Durante 7 dias donde luego se determinó la actividad antimicrobiana mediante el método de difusión en agar (Método de Kirby-Bauer)

**RESULTADOS.** Se encontró que el extracto etanolico al 25%, 50%, no posee actividad antibacteriana, Mientras que 100% se evidenció actividad antibacteriana significativa. A dichas concentración presentó mejores resultados en la medición de los halos de inhibición a lo largo de todos los momentos de tiempo 24, 48 y 72 horas comparando con la claritromicina que es uno de los antibióticos utilizados para tratar infecciones a causa de Staphylococcus Aureus. En las condiciones experimentales realizadas se demostró que el extracto etanólico en las concentraciones de 100% posee efecto antibacteriano e influye en cepas de *Staphylococcus* Aureus.

Palabras Clave: Caesalpinia Spinosa (Tara), staphylococcus aureus, extracto etanolico efecto antibacteriano.

### **ABSTRACT**

Research work served to evaluate the action of the ethanolic extract of Caesalpinia Spinosa "Tara" which is a plant to which different properties are attributed, among which we find its antimicrobial power. Its antibacterial effect was tested in Staphylococcus Aureus strains in vitro studies. Its antimicrobial effect was also compared to clarithromycin, an antibiotic used for strains of Staphylococcus Aureus.

**OBJETIVE:** To determine the antibacterial activity, in vitro, of the ethanolic extract of Caesalpinia spinosa (tara) in strains of Staphylococcus aureus.

**METHOD:** The type of research carried out was applied prospective with a design with two control groups (negative and positive). The population corresponded to Caesalpinia Spinosa "Tara"

collected in the district of Churin, department of Lima, Peru. For the study, 500 gr. From pods that were dried, the powder was ground and macerated in ethanol at 70 ° C. During 7 days, the antimicrobial activity was then determined by the agar diffusion method (Kirby-Bauer method).

**RESULTS:** It was found that the ethanolic extract at 25%, 50%, does not have antibacterial activity, while 100% showed significant antibacterial activity. At these concentrations, it presented better results in the measurement of the inhibition halos throughout all the time points 24, 48 and 72 hours compared to clarithromycin, which is one of the antibiotics used to treat infections caused by Staphylococcus aureus. Under the experimental conditions carried out, it was shown that the ethanolic extract at 100% concentrations has an antibacterial effect and influences strains of Staphylococcus Aureus.

**Key words:** Caesalpinia Spinosa (Tara), staphylococcus aureus, ethanolic extract, antibacterial effect.

### I- INTRODUCCION

El territorio del Perú tiene una gran variedad botánica, sus usos medicinales han sido utilizados en forma empírica junto con su conocimiento terapéutico. Estos conocimientos debieron ser validados, aprobados experimentalmente (1,2). Actualmente se está utilizando su variedad botánica por sus propiedades terapéuticas cuyas propiedades pues aún no son terapéuticas ni experimentalmente aprobadas su fácil comercialización hacen asequible el aprovechamiento de las plantas ya que tienen un bajo recurso económico (8)

La OMS, indica su uso en países en vías de desarrollo con estudios preclínicos y clínicos de plantas medicinales (2).

El uso de las plantas medicinales en nuestro medio se está revalorizando, aportando un completo aporte científico al enfoque tradicional, ya que se han modificado sus principios activos utilizados para muchos fármacos, así como la corteza que crece de forma rudimentaria en las áreas de la

región de Churín de Lima y otras partes del Perú (2) tiene una amplia gama de aplicaciones experimentales. Nuestros ancestros lo usaban por sus propiedades curativas como lavado contra infecciones de bronquitis, sinusitis, así como enjuague de ojos, infecciones vaginales y de tiña, heridas crónicas, dientes rotos, Bebida para tratar dolores abdominales, diarrea, cólera, reumatismo y como depurativo del colesterol en la medicina tradicional peruana (1,2). El uso empírico de envases para el tratamiento de enfermedades respiratorias nos permite conocer más sobre sus propiedades antibacterianas y su efecto sobre los microorganismos que las causan, pudiendo brindar una fuente alternativa.

Las enfermedades respiratorias son frecuentes en nuestro medio, las bacterias se han vuelto resistentes a los antibióticos debido a su uso inadecuado, por ello este estudio tiene como objetivo demostrar el efecto antibacteriano del extracto de tara sobre una especie bacteriana clínicamente experimental conocida como Staphylococcus Aureus. Para brindar una nueva alternativa de tratamiento de estas infecciones, y sobre todo, al alcance de personas de escasos recursos

El Staphylococcus aureus es una de las principales causas de infecciones tanto en el hospital como en el medio ambiente. Causa una variedad de enfermedades, desde infecciones cutáneas leves hasta la mortal neumonía de Alexander von Humboldt. La Universidad del Perú dice que las infecciones por Staphylococcus aureus tienden a ocurrir en personas con factores relacionados con la salud (cirugía previa, hospitalización, etc.). ). Las primeras observaciones se realizaron en grupos de niños, homosexuales y heterosexuales, en equipos de jugadores, presos, a menudo en algunos países desarrollados.

### El problema general del estudio es:

¿Cuál es la actividad antibacteriana, in vitro del extracto etanoholico de las vainas de Caesalpine spinosa (tara) en cepas de Staphylococus aureus.

### Problemas específicos:

- ¿Qué metabolitos secundarios se presentan en mayor concentración en el extracto etanolico de las vainas de Caesalpinia spinosa (tara).
- ¿En qué concentración el extracto etanolico de las vainas de Caesalpinia spinosa (tara) poseen efecto antibacteriano, en cepas de Staphylococcus Aereus, In vitro.

- ¿Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanolico de las vainas de Caesalpinia spinosa (tara). Comparado con claritromicina in vitro en cepas de Stapilococcus Aureus?

Por ello, este estudio se propone demostrar la actividad antibacteriana del mencionado estudio, que quedará como un paso adelante en futuras investigaciones, que ayudarán a complementar la información científica sobre esta planta.

El objetivo general de la investigación consistirá en:

Evaluar la actividad antibacteriana, in vitro, del extracto etanólico de las vainas de *Caesalpinia* spinosa (tara) en cepas de *Staphylococcus aureus*.

### Objetivos específicos

- Identificar metabolito secundario presentes en mayor concentración en el extracto etanolico de las vainas de Caesalpinia spinosa (tara).
  - Determinar la concentración del extracto etanolico de las vainas de *Caesalpinia* spinosa (Tara) que posee efecto antibacteriano en cepas de Staphylococcus aureus in vitro.
  - Evaluar la actividad antibacteriana el extracto etanolico de las vainas de Caesalpinia spinosa (tara). en cepas de Staphylococcus aureus comparado con la claritromicina..

A partir de estas premisas nos planteamos las siguientes hipótesis:

Hipótesis General.

La actividad antibacteriana, in vitro, del extracto etanólico de las vainas de Caesalpinia spinosa (Tara). En cepas de Staphylococcus aureus, es altamente eficaz.

### Hipótesis Específica:

- Existen metabolitos secundario con mayor presencia en el extracto etanolico de las de vainas de caesalpinia spinosa (Tara).

- Existe una concentración del extracto etanólico de las vainas de caesalpinia spinosa (Tara) con efecto antibacteriano en cepas de staphylococcus aureus in vitro.
- El extracto etanólico de las vainas de caesalpinia spinosa (tara). En cepas de staphylococcus aureus comparado con claritromicina tiene efectividad positiva.

Se realizaron las investigaciones en las diferentes fuentes, encontrando similitudes siendo estas: A nivel nacional podemos citar a.

Castro A. "composición química del aceite esencial de Caesalpinia spinosa tara" evaluación antioxidante y efecto antibacteriano frente a Staphylococcus mutans". Lima 2016 Se elaboró por destilación al vapor con un rendimiento de 0,125% v/w, logrando actividad antioxidante y antibacteriana frente a Streptococcus mutans ATCC 35668. Se utilizó para la determinación de compuestos químicos y su estudio.

**Gomez B.** "Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de Caesalpina spinosa ("TARA") sobre Candida albicans cepa ATCC 90028. Trujillo. (2015).

. Este método es una comparación longitudinal, mostrando actividad inhibitoria in vitro frente a Candida albicans, cuyo aumento se debe al porcentaje utilizado, da como OMS 50%. Y para los halos resultantes, tienen sensibilidades promedio () a concentraciones del 75 % y del 100 %. Este informe mostró que el extracto inhibía Candida albicans ATCC 90028 con una MIC del 50 %. (5)

**Quispe T.** "Evaluación antioxidante y antienzimatica in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcoholico de la Caesalpinia spinosa "Tara" Lima UNMSM (2015).

Se llegó a validar el efecto antioxidante y antienzimatica de la Caesalpinia spinosa tara, el método que se utilizó fue experimental se llegó a mostrar un resultado la actividad antioxidante. El extracto hidroalcoholico inhibirá la actividad de la enzima colagenasa, aumentará su potencia, no hay actividad significativa para inhibir la enzima elastasa, se ha encontrado que esta planta tiene efecto antiinflamatorio, mostrando diferencia significativa entre los valores medios de las sustancias

 $(p \le 0.05)$  de la segunda a la sexta hora; sin embargo, esto no fue significativo en comparación con el estándar de referencia (indometacina) a la misma concentración.

**Núñez W.** "Evaluación antioxidante y antienzimatica in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcoholico de la Caesalpinia spinosa "tara". (2015).

La investigación de este trabajo experimental, prospectivo y longitudinal cuyo objetivo fue llegar obtener el extracto hidroalcoholico haciéndolo como un macerado, la marcha fitoquímico y la determinación de la actividad antioxidante (DPPH y AB75) se llegaron encontraron presencia de fenoles, taninos, carbohidratos, flavonoides y alcaloides mostrando una leve actividad antiinflamatoria. (6)

Zárate M. "Efecto in vitro antibacteriano del extracto acuoso de Caesalpinia spinosa (tara) sobre cepas de Streptococcus pyogenes y escherichia coli aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo". (2014).

Se confirmó la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de Caesalpinia spinosa "tara" sobre aislamientos de Streptococcus pyogenes y Escherichia coli en el Hospital Provincial. El efecto obtenido con estos fármacos como amoxicilina, cotrimoxazol, utilizando cepas de Escherichia coli, puede compararse con el extracto de Caesalpinia spinosa con gentamicina, mostrando una sensibilidad alta pero inferior a la ciprofloxacina. (7)

Anivel internacional podemos mencionar los trabajos de. **Mira J.** Realizo el estudio "Eficacia antimicrobiana in vitro del extracto de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) y tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre cepa certificada de *Staphylococcus aureus*". (2017).

**Cruz C.** "Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de Bidens pilosa, Lantana Camara, Schinus molle y Silybum marianum". (2010)

El método utilizado fue la extracción alcohólica experimental de las hojas de L. camara, S. marianum, B. pilosa y S. Molle mostró actividad inhibitoria contra Staphylococcus aureus, lo que fue confirmado por los diferentes métodos utilizados en este estudio. Por el contrario, al ser resistente a cepas de E. coli y P. aeruginosa en todos los ensayos demostraron ser insensibles a cualquiera de los extractos probados, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar las

propiedades antibacterianas de las cuatro especies de plantas ensayadas cosechadas en la ciudad de Tunja (Boyaca). (13)

**Hernando C.** "Efecto inhibitorio del extracto etanólico de Caesalpinia spinosa ("tara") in vitro sobre cepa de Candida albicans México (2008)

Se comparó su actividad antibacteriana in vitro a 4 concentraciones ensayadas frente a Candida albicans ATCC 90028. Estudio comparativo confirma el efecto inhibidor del extracto alcohólico de Caesalpinia spinosa (tara) frente a Candida albicans. se utilizaron diferentes concentraciones al 25%, 50%, 75% y 100%, aumentando proporcionalmente a las concentraciones utilizadas, dando como resultado un 50% de CMI, alcanzando la concentración de halo resultante la sensibilidad media en las concentraciones de 75% y un 100 14)

**Delgado T.** "Estudio epidemiológico de Staphylococcus aereus resistentes a meticilina aislados en el Hospital Universitario de Canarias. (2014)

El objetivo conocer la incidencia de infecciones por Staphylococcus aureus resistente a la meticilina (SARM) en pacientes hospitalizados en el Hospital Universitario de Canarias (HUC) durante el periodo de estudio (mayo 2000 hasta diciembre 2004). , el método utilizado es vigilancia basada en los resultados de cultivos de muestras clínicas, vigilancia basada en la revisión de las historias clínicas y resultados de los cultivos. (15)

**Velasquez L.** "Actividad antimicrobiana de extractos de franseria artemisioides, rumex palustris, y piper asperifolium frente a staphilococcus aereus, eschericia coli y Pseudomonas. Aeroginisa. (2007)

El objetivo de este trabajo era confirmar Actividad antimicrobiana de extractos acuosos, alcohólicos, etéreos y diclorometánicos de partes aéreas de plantas de monte frente a Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus.

Con respecto a las bases teóricas Para el conocimiento, análisis y evaluación de las variables se ha consultado las diferentes teorías, definiciones y evaluaciones de literaturas que se citan a continuación:

### - CAESALPINIA SPINOSA "TARA".

Pequeño árbol con una altura de aproximadamente de 3 metros de escapo corto, cilíndrico y aquebrado conteniendo una envoltura gris espinosa su tronco con ramillas. Su opúsculo son en forma de oval espinosa ligeramente con colores verdoso sus flores amarillo rojizo y sus carpos de 8cm a 15 cm de largo tiene unos frutos anaranjados conteniendo de 4 a 7 De forma semicircular de 0,6 a 0,7 cm de diámetro, de color marrón oscuro en la madurez e inflorescencias de 15 a 20 cm de largo.

Se encuentran en la costa y en los valles entre los Andes del Perú, en altitudes de 1300 a 2800 m, y se extienden hacia Ecuador, Colombia, Venezuela, Bolivia, Chile y Perú (8). Naturalmente, ocurre en regiones semiáridas con una precipitación anual promedio de 230-500 mm.

Caesalpinia spinosa y tiene la siguiente composición taxonómica, De acuerdo a su taxonomía L. División: Magnoliophyta, Clase: Magnoliopsida, Orden: Fabales Familia: Caesalpiniaceae, Género: *Caesalpinia*, Especie: Caesalpinia spinosa (Molina), Nombre Vulgar: "Tara", "Taya"

Composición Química de Caesalpinia Spinosa (Tara).

- Vainas: Contiene taninos hidrolizables (galotaninos) y taninos en un rango de 40% a 60%, <sup>28</sup>
- Semillas: Sus componentes manométricas galactosa y manosa<sup>27</sup>.
- Hojas: están presentes glucósidos, mucílago, mucílago, taninos (12,7% en forma de taninos gálicos), antraquinonas (libres en cantidades superiores a las combinadas en el caso de los glucósidos): reína, sinosido, glucósidos libres, C-glucósidos, emodina, isomodina, asteroides y flavonoides.

### - METODOS DE EXTRACCION.

La extracción sigue siendo de considerable interés para poder obtener las drogas ya sean vegetales o animales.

**Extracción Mecánica:** Expresión: La planta fresca se coloca en una prensa hidráulica y se prensa hasta extraer su jugo, este método se utiliza para extraer jugo de cítricos, aceite, etc. Este es el método de extracción. Extracción por corte. Este procedimiento se utiliza para extraer exudados de material vegetal como goma, resina, miel o esquejes de plantas vivas.

Proceso de destilación. Extracción por inyección de vapor. Se expande a través de la materia vegetal, esto reduce su descomposición con componentes, es un método fácil para obtener aceites esenciales <sup>30</sup>.

### - TAMIZAJE FITOQUÍMICO.

Este es uno de los primeros pasos, ya que nos permite identificar los principales grupos químicos de las plantas y de ahí dirigir la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para aislar los grupos más grandes. Según los avances en fitoquímica de Olga LOOK la muestra se extrae con solventes que aumentan la polaridad de éteres, alcoholes y agua, cambiando el pH del ambiente para obtener metabolitos. Después de separar las fracciones, los metabolitos secundarios se identificaron mediante reactivos de tinción y precipitación <sup>35</sup>.

### - SCREENING CROMATOGRÁFICO

Fundamento: "La cromatografía se denomina como un conjunto de técnicas que permite la separación de los componentes de una mezcla que en algunos casos no son separables por otros métodos. Se fundamenta en la distribución de una muestra entre dos fases de acuerdo a su afinidad, la primera es la fase móvil (inmiscible sobre la fase estacionaria y puede ser gaseosa, líquida o un fluido supercrítico) y la segunda es la fase estacionaria la cual se soporta sobre un sólido".<sup>37</sup>

### - METABOLITOS SECUNDARIOS:

También conocidos como productos naturales, estos son compuestos que se obtienen a través de procesos químicos específicos de una planta en particular y son poco comunes. Este químico es común en varios tipos diferentes de plantas o familias de plantas. <sup>40</sup>

El extracto etanólico de las vainas de Caesalpinia spinosa "Tara". Se obtiene por remojo en agua con alcohol, a partir de polvo seco obtenido de la molienda de vainas previamente lavadas y secadas, los metabolitos secundarios se determinan mediante el método de Olga Look, se realizaron las pruebas de solubilidad, tamizaje fitoquimico, cromatografía en capa fina y la prueba de flavonoids totales. Prueba UV de flavonoides y taninos. Se realizó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de Inca Garcilaso de la Vega, en marzo de 2018

La actividad antibacteriana se determinó por el método de Kirby - Bauer, en el cual se determinaron cultivos de laboratorio con cepas control de: Staphyloccus aureus ATCC 25923, las

cuales fueron analizadas en placas de papel Whitman para antibióticos, e impregnadas con diferentes concentraciones. alcanzó el 12,5%; 25%, 50%; 75% y 100%. El porcentaje de inhibición se determinó midiendo el halo de inhibición formado alrededor de las placas a las 24, 48 y 72 horas, y se comparó el porcentaje de inhibición de diferentes concentraciones con la claritromicina. Se utilizó el método Kirby – Bauer y se realizaron cultivos en el Laboratorio de Microbiología en marzo de 2018.

Para la recolección de datos se utilizó un archivo complejo, el cual registró los datos obtenidos al medir los halos con un pie de rey o vernier.

- Los resultados se interpretaron según la escala de Durafurd, esta escala muestra el efecto inhibitorio que puede tener la concentración in vitro según el diámetro inhibitorio.

### II- METODO.

### 2.1 TIPO Y DESEÑO DE INVESTIGACION.

### 2.1.1 TIPO DE INVESTIGACION.

- ANALÍTICA: Porque nos permite analizar los diferentes componentes que contienen los extractos y cómo influyen a la actividad antibacteriana
- IN VITRO: Porque la investigación se realiza en los medios de cultivo utilizados para cultivar la bacteria y las condiciones de investigación se controlan deliberadamente
- CUANTITATIVO: Además, la investigación adoptará un enfoque cuantitativo, ya que los resultados se presentarán a través de mediciones numéricas para probar las hipótesis desarrolladas en este estudio, que se realizan mediante diferentes mediciones del diámetro de los halos durante el período definido.

### 2.1.2 DISEÑO DE INVESTIGACION

### VARIABLES

### - VARIABLE INDEPENDIENTE.

Efecto antibacteriano en Staphylococcus aureus

### DIMENSIONES

Diámetros del halo de inhibición

### VARIABLE DEPENDIENTE.

Extracto Etanólico de las vainas Caesalpina spinosa

### • DIMENCIONES

- Concentraciones al 25 %
- concentración al 50%,
- concentración al 100%

### 2.2 OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

VARIABLE	DEFINICION	DIMENCIONES	INDICADORES	UNIDAD DE
DEPENDIENTE	CONCEPTUAL			MEDIDA/PUNTO
				DE CORTE
extracto etanólico	Producto obtenido	Concentracion del	100%	Porcentaje
de las vainas de	mediante un	extracto etanólico	75%	
caesalpinia	proceso físico que	de las vainas de	50%	
spinosa (tara)	contiene	caesalpinia	25%	
	principios activos	spinosa (tara)	12.5%	
	solubles		Alcaloides	Presente/Ausente
		Estudio		
		fitoquimico	Flavonoides	
			Compuestos Fenólicos	
			Taninos	
			Antraquinonas	
			Aminoácidos	
			Cumarinas Volátiles	
			Glúcidos	

			Almidón	
			Cetonas	
VARIABLE	DEFINICION	DIMENCIONES	INDICADORES	UNIDAD DE
INDEPENDIENT	CONCEPTUAL			MDIDA/PUNTO
E				DE CORTE
Efecto	Accion o	Halo de inhibición	Medición del	Presencia/ausencia.
antibacteriano en	actividad de una		Diametro del halo de	
Staphylococcus	sustancia que		inhibicion	
aureus	inpide o evita el			
	crecimiento de			
	una bacteria.			

### 2.3 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO.

### 2.3.1 POBLACIÓN

### - POBLACION BACTERIANA

- Constituidas por cepas bacterianas de staphilococus aureus ATCC 25923

### - POBLACIÓN VEGETAL

Constituida por la especie vegetal Caesalpinia spinosa "Tara".

### 2.3.2 MUESTRA DE LA INVESTIGACION.

### - MUESTRA BACTERIANA.

Estuvo conformado por el número de colonias que se empleó para la preparación de inoculo bacteriano.

### - MUESTRA VEGETAL.

Se ha empleado 4000 gramos vainas de Caesalpinia spinosa. "Tara", que fueron recolectadas de forma aleatoria en el distrito de Churin, departamento de Lima.

### • CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- muestras frescas.

- muestras en buen estado
- muestras idénticas taxonómicamente.

### • CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Muestras marchitas o deterioradas
- Muestras en descomposición
- Muestras de otra especie vegetal

### 2.3.3 MUESTREO

No probabilístico por conveniencia.

# 2.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.

### 2.4.1 TÉCNICAS.

### - Obtención Del Extracto Etanolico.

Se pesaron 500 g de vainas finamente pulverizadas de Caesalpina spinosa (Tara).

- y 2 litros de etanol a 70° C. El concentrado se almacena en una botella de vidrio ámbar debidamente etiquetada. Se deja macerar durante 1 semana, con homogeneización mecánica diaria. El día
- , añade 100 ml de alcohol de 70° y sigue removiendo hasta el final de la semana. Después de 1 semana de inmersión, el producto se filtró 3 veces, una primera con papel filtro Whatmann  $N^\circ$
- 1, una segunda filtración con papel filtro Whatmann  $N^{\circ}$  2 y finalmente una tercera filtración con papel filtro Whatmann  $N^{\circ}$  1. Se obtuvieron 1200ml de extracto puro sin germen. Luego se coloca en un frasco de vidrio ámbar para su conservación.

### - Kirby-Bauer.

Esta técnica permite la inoculación de microorganismos en la superficie de las placas de

agar, sobre las cuales se colocan placas saturadas con concentraciones conocidas de antibióticos.

2.4.2 INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

- Vernier digital: instrumento que permitirá determinar el tamaño del halo de inhibición

- Registro de datos: Para la recolección de datos se utilizó la técnica de observación

múltiple de las muestras en el laboratorio. Los datos obtenidos en la evaluación de los

análisis que fueron sometidos las muestras de estudio; son registrados en el instrumento de

investigación.

- Base de datos: El instrumento de recolección de datos empleado en la presente

investigación fue la ficha de recolección de datos. En este se expresó cuadro sobre la

sensibilidad de las cepas a diferentes fármacos antimicrobianos, con una zona de inhibición

en milímetros (mm) para 40 placas con agar Muller-Hinton conteniendo cada una de ellas

40 discos:

Control negativo: Agua destilada

Control positivo: Claritromicina 500 mg

2.5. PROCEDIMIENTOS DE RECOLECCION DE DATOS.

2.5.1. RECOLECCIÓN Y AUTENTICACIÓN BOTÁNICA.

Las muestras fueron recolectadas en el distrito CHURIN de la División LIMA. Observa las

mejores semillas para la cosecha, recolecta los mejores frutos, córtalos y guárdalos en

canastas para evitar la sudoración excesiva. Esta planta ha sido identificada y autenticada por

el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional de San Marcos. Se adjunta

certificado de identificación taxonómica.

2.5.2 PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.

Se empleó 4000 gr de las vainas de Caesalpinia spinosa "Tara". Se realiza un primer lavado

con agua corriente y luego se desinfecta con una solución de agua e hipoclorito de sodio al

0.1 % durante 3 minutos posteriormente se le hizo progresivo lavado con agua estéril hasta

eliminar el olor característico de hipoclorito.

24

- Una vez limpio se extendió en una fuente para secar a temperatura ambiente por 2 días luego se procedió a separar las semillas de las vainas.
- Se colecciono las vainas de la tara sin semilla y se llevó a estufa en una temperatura de 40° C durante un periodo de 72 horas. Seguidamente las vainas fueron pulverizadas en un molino manual del cual se obtuvo un polvo fino más de 1 k de peso.

### 2.5.3 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO.

- Se pesó 500 gr del polvo fino de las vainas de la Caesalpina spinosa (Tara).
- Se adicionó etanol de 70°C.1 Litro.
- Se guardó el concentrado en frasco de vidrio ámbar debidamente rotulado.
- Se dejó macerar por 1 semanas, con homogenización mecánica diaria. Al 4to día se agregó
   100 ml más de alcohol 70° y se siguió agitando hasta completar la semana.
- Después de 1 semanas de maceración El producto fue filtrado 3 veces, primero con papel filtro Whatmann N° 41, un segundo filtrado fue realizado con papel filtro Whatmann N° 2 y por último un tercer filtrado fue en papel Whatmann N° 1.
- Obteniéndose 1200ml de extracto purificado libre de gérmenes. Luego fue colocado en un frasco de vidrio de color ámbar para conservación.

### 2.5.4 ANÁLISIS FITOQUÍMICO DE CAESALPINIA SPINOSA (TARA)

### - SCRENNING FITOQUÍMICO.

Para las pruebas de tamizaje fitoquímico, debe saber que las pruebas son de precipitación y/o tinción, la implementación es sencilla, vierta un mililitro de muestra "Tara" en tubos de ensayo y deje caer el reactivo gota a gota para la identificación correspondiente de metabolitos.

### - PRUEBA DE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.

Para las pruebas de cromatografía de capa fina, es un método ampliamente utilizado hoy en

día para separar mezclas de todo tipo de productos naturales.

Los compuestos discretos generalmente se detectan mediante métodos generales o específicos, la luz ultravioleta permite la detección de absorbentes con una longitud de onda larga de 365 nm y una longitud de onda corta de 254 nm.

### - PRUEBA DE ESPECTROFOTOMETRÍA EN EL UV-VIS

### A.- Cuantificación de Flavonoides Totales

Se toma una alícuota de 0.5 mL de muestra de "Tara", y se adiciona 6 mL de etanol + 0.4 mL del reactivo de tricloruro de aluminio al 2% + 0.4 mL del reactivo de acetato de sodio 1M y agua cantidad para 20 mL de volumen final. Tanto los estándares como las muestras son incubados por 30 minutos luego fueron leídas el espectrofotómetro UV-VIS a 415 nm de longitud.

### **B.** Cuantificación de Taninos Totales

La determinación del contenido de Tainos en el extracto hidroalcohólico, se hizo utilizando la espectrofotometría ultravioleta-visible donde las muestras fueron leídas a 700 nm y su absorbancia referida a ácido tánico.

### 2.5.5. ENSAYO MICROBIOLÓGICO.

Se utilizó el método de **Kirby Bauer**, consiste en la difusión de una muestra a través de una capa de agar solidificado, en una extensión tal que el crecimiento de microorganismos sensibles es inhibido en zonas alrededor del área que contiene los discos de papel secante impregnados con el extracto etanolico de las vainas de c*aesalpinia Spinoza* (tara) y del antibiótico claritromicina. <sup>50</sup>

### - Cepa control.

Se trabajó con la cepa control, Staphylococus Aureus ATCC 25923.

- Medio de cultivo.
- Agar manitol salado.
- Muller-Hinton.

### - Preparación de las diferentes concentraciones del extracto Caesalpinia Spinosa "Tara".

El extracto etanólico se consideró a una concentración al 100 %, a partir de éste se hicieron diluciones con agua destilada estéril para obtener concentraciones al 100%, 75%, 50%, 25% y 12.5% respectivamente.

Estas concentraciones fueron guardadas en frascos color ámbar estéril.

### -Preparación de discos de sensibilidad de extracto etanolico de Caesalpinia Spinosa "tara"

- Para esta prueba preparamos discos de sensibilidad perforando papel Wattman Nº1, empleando un perforador convencional.
- Estos fueron colocados en una placa Petri y fueron esterilizados en autoclave a 121°C durante 15 minutos a una atmosfera de presión.
- Luego fueron secados en estufa a 37°C por 5 horas
- Luego se procedió a agregar a cada uno de los discos 50 μl de las concentraciones de 12.5%, 25%, 50%, 75% y 100% de Extracto etanólico y se dejó secar a temperatura ambiente.
- De la misma manera elaboramos discos de claritromicina para realizar el antibiograma.

### - Inoculación de las cepas de Staphylacoccus Aureus en placas de agar Müeller -Hinton.

- En la zona estéril manteniendo cerca el mechero se toma una muestra del cultivo original de staphilococus aureus.
- Con hisopos estériles se inocula en la superficie de las 120 placas con agar Müeller Hinton, antes preparada.

- El estriando se realiza con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo como se muestra en la figura 18.

### Aplicación de los discos de sensibilidad.

- Dividimos las placas en 4 partes iguales y aplicamos un disco en cada división. Sobre el agar de Müeller Hinton inoculadas con Staphylococus Aureus ATCC 25923.
- Luego usando una pinza estéril se agrega los discos previamente preparados Se colocaron individualmente, empezamos con el de menor concentración 12.5%, presionando suavemente para asegurar un contacto completo con la superficie del agar
- Repetimos el mismo procedimiento para las otras concentraciones, se realizaron con 40 ensayos por cada concentración. de 12.5%, 25%,50%,75% y 100%.

### - Incubación.

- Después de 15 minutos de aplicar los discos, se envuelven con papel Graf. Siempre manteniendo la esterilidad de la zona.
- Y se incubaron las placas en posición invertida a 37°C durante 24 horas.
- se realizará 40 ensayos de cada concentración para tener una mejor observación y resultados que reportar.

### -Medición de los halos de inhibición.

- Pasada las 24 horas después de la siembra se procedió a tomar la medida de los halos de inhibición de cada disco contra una superficie oscura bajo luz reflejada.
- Medimos el diámetro de la zona incluyendo los mm del disco, con una regla o vernier sobre el respaldo de la placa Petri sin remover la placa.

Fórmula para	la Determinación del Porcentaje de	Efecto Inhibitorio Relativo	(PEIR)
Γ			

% Inhibición = Diámetro de la muestra x 100

Diámetro del control

Clasificación de la actividad antimicrobiana según el porcentaje de inhibición. Se detalla en una tabla la Escala de Duraffourd:

### 2.6 MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS.

Se calculó la media y desviación estándar de los diámetros de inhibición, como medidas de tendencia central, obtenidas de la medición de la formación de los halos de inhibición que son presentados en tablas y gráficos. Los resultados se evaluaron mediante el método de Análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Science)

### 2.7 ASPECTOS ÉTICOS

Este proyecto de investigación no representa ningún peligro para el ser humano ni para los animales ya que no los opera ni manipula, sin embargo, el trato con microorganismos patógenos amerita especial atención en el manejo y disposición de los desechos, por lo que se respetará las normas de bioseguridad en los Laboratorios analiticos y principios de ética y deontología

### III. ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 3.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.

A continuación se presentan los resultados a nivel descriptivo e inferencial Para interpretar los resultados del estudio de acuerdo a los objetivos e hipótesis formulados.

Se procedió a analizar los resultados obtenidos en la evaluación fotoquímica con la finalidad de identificar la cantidad de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanolico de tara.

En segundo lugar, debe realizar el procesamiento de datos. Análisis de actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de Caesalpinia Spinosa (tara) contra cepas de Staphylococcus

aureus, Finalmente, se comparó la actividad antibacteriana de la claritromicina. In vitro en cepas de Staphylococcus aureus,

La media y la desviación estándar de los diámetros de inhibición se calcularon como medidas de tendencia central obtenidas midiendo la formación de halos de inhibición que se muestran en las tablas y gráficos. Los resultados fueron evaluados con el método de análisis de varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Science) v.23, Windows.

### 3.1.1. RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN FITOQUÍMICA.

### - RESULTADOS DE PRUEBA DE SOLUBILIDAD.

Para la prueba de Solubilidad tenemos que contar con el extracto seco del extracto etanolico de las vainas de Cesalnia Espinosa"Tara", colocamos una pequeña cantidad de la muestra en los tubos de ensayo para luego verter unos 3 a 5 mL de los solventes como (Metanol, Etanol, Agua, Cloroformo, Alcohol de 96° y Isopropanol) esta prueba nos da referencia en que solventes es más soluble la muestra a tratar

- Los resultados fueron los siguientes:

# - Tabla 1: Resultados de prueba de solubilidad del extracto etanolico de las vainas de Caesalpinia Espinosa "Tara".

Solventes	Resultado para "Tara" extracto etanolico
-Agua	(+)
-Isopropanol	(+++)
-Cloroformo	(+)
-Metanol	(-)
-Etanol	(+)
-Alcohol 96°	(-)

Leyenda: - (-) La solubilidad no se visualiza

- (+) La solubilidad en menor grado
- (++) La solubilidad es moderada
- (+++) La solubilidad es mayor

La tabla anterior nos muestra que el extracto extracto etanolico de las vainas de Cesalpinia Espinosa"Tara" tiene mayor solubilidad en solución de isopropanolol, tiene solubilidad de menor grado en solución de clñoroformo, metanol, alcohol de 96° y agua no es soluble en metanol.

### - RESULTADO DE SCRENNING FITOQUIMICO.

### A) IDENTIFICACION DE METABOLITO SECUNDARIOS.

Determinación cualitativa de Metabolito Secundarios del extracto etanólico de las vainas de Caelsapina Spinosa (tara)

Tabla 2. Resultado de identificación de maetabolitos secundarios en extracto etanolico de Caesalpinia Espinosa (Tara)

Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Resultado para "Tara"	
	Mayer	Precipitado blanco (+)	
	Wagner	Precipitado marrón (+)	
	Dragendorff	Precipitado rojo o naranja (++)	
Alcaloides	Scheibler	Precipitado o Color blanco (-)	
	Sonneschein	Precipitado naranja (++)	
	Reineckato	Color rosa (++)	
	Shinoda	Color rojo (+++)	
Compuestos	Cloruro férrico	Color negro (+++)	
fenólicos (taninos) y	Gelatina al 1%	Precipitado blanco (+++)	
Flavonoides	Reacción de	C-1( )	
	Bortranger	Color rojo (-)	
Aminoácidos	Ninhidrina	Color rosado (-)	

Cumarinas	Hidróxido de sodio al 10%	Azul brillante al UV 254 (-)
	Sould at 1070	

### Dónde:

- (-) La coloración o precipitado no se evidencia
- (+) La coloración o precipitado se evidencia poco
- (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente
- (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente.

## B) IDENTIFICACIÓN DE METABOLITO PRIMARIOS.

Tabla 3. Resultado de identificación de maetabolitos Primarios en extracto etanolico de Caesalpinia Espinosa (Tara)

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS	

Metabolitos Primarios	Reactivo de identificación	Resultado para "Tara"		
Glúcidos	Fehling A y B	Precipitado espejo plata (+++)		
Almidón	Lugol	Coloración oscura (-)		
Cetonas	2,4 DNPH	Precipitado amarillo o naranja rojizo (-)		

### Dónde:

- (-) La coloración o precipitado no se evidencia
- (+) La coloración o precipitado se evidencia poco
- (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente
- (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente

### - RESULTADOS DE CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.

### A.- Cromatografía en capa fina - Alcaloides.

Se evidencio las manchas de deslizamiento en la luz UV 254 nm. Para la identificación de alcaloides en la muestra se rocía ácido sulfúrico al 2 % y luego el reactivo de Dragendorff, como revelador.

**Resultado**. Se observó manchas de tono naranja lo que indica efecto positivo para alcaloides. Esto indica presencia de alcaloides de la muestra en análisis "Tara".

.

### B.- Cromatografía en capa fina - Flavonoides

Una vez finalizado el flujo, las muestras se secan en una placa caliente hasta que el disolvente se evapora y la coloración es evidente bajo luz ultravioleta a 254 nm, con tricloruro de aluminio como revelador.

**Resultado.** Se observó el color característico de manchas amarillas, indicando un resultado positivo para flavonoides. Esto indica la presencia de flavonoides en la muestra en el análisis de TARA

### 3.1.1.4.-Resultado de Prueba De Espectrofotometría En El Uv-Vis

### A.- Cuantificación de Flavonoides Totales

. Se obtuvo 14.20 mg de Quercetina / mL del extracto hidroalcolico de las vainas de Caesalpinia Espinosa "Tara"; es decir que los flavonoides totales se expresan en miligramos equivalentes de Quercetina por mililitros de extracto.

#### B. Cuantificación de Taninos Totales

Se obtuvo 232.04 mg de ácido Tánico / mL del extracto hidroalcolico de las vainas de Caesalpinia Espinosa "Tara"; los taninos totales se expresan en miligramos.

### 3.1.2. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN MICROBIOLOGICA.

Se determinó el efecto antibacteriano del extracto etanólico de las vainas de *Caesalpina spinosa* "Tara" en cepa de *Staphylococcus aureus* in vitro.

Se trabajó con cinco (05) concentraciones de Tara; siendo estas a 12.5%, 25%, 50%, 75% y 100%; se usó como control positivo a la Claritromicina y de control negativo al agua destilada. Cabe señalar que se hicieron 40 repeticiones La medición de los halos de todas muestras fueron medidos

a las 24, 48 y 72 horas, Los resultados serán interpretados según la escala de Duraffourd, A continuación se detalla en una tabla la Escala de Duraffourd:

Escala de Sensibilidad	Diámetro de los halos de inhibición			
Sensibilidad Nula (-)	Diámetro inferior a 8 mm			
Sensible media (+)	Diámetro entre 8 a 14 mm			
Muy sensible (++)	Diámetro entre 14 a 20 mm			
Sumamente sensible (+++)	Diámetro superior a 20 mm			

Fuente: Carvalho Xavier, 2002

### Comparación de los Diametros de inhibición.

- Para interpretar los resultados del estudio de acuerdo a los objetivos e hipótesis planteteados, se midieron y comparan los diámetros del halo de inhibición, entre los grupos de cada concentración de 12.5%,25%,50%,75% y 100% de extracto etanólico de Caesalpinia Spisosa "tara". En 24h, 48 y 72h.

**Tabla 4:** Comparación de formación de los halos de inhibición de la claritromicina en medida de mm, con las concentraciones de 12.5%,25%,50%,75% y 100% del extracto etanólico de "tara" en tiempos de 72hrs.

Medida de los halos de Inhibición en (mm) 72 horas									
N° Placas	DMS	Control Positivo de Claritromicina	Concentración al 12.5 %	Concentración al 25 %	Concentración al 50 %	Concentración al 75 %	Concentración al 100 %		
1	0	18	4	10	16	16	16		
2	0	18	4	10	14	16	18		
3	0	18	4	10	16	16	16		
4	0	18	4	10	16	16	18		
5	0	18	0	10	16	16	18		
6	0	18	0	10	16	16	18		
7	0	18	0	10	16	16	18		
8	0	18	0	8	16	16	18		
9	0	18	4	10	16	16	18		
10	0	18	4	10	16	16	18		
11	0	18	0	10	16	16	18		
12	0	18	4	8	14	16	18		
13	0	18	4	10	16	16	18		
14	0	18	4	10	14	16	18		
15	0	18	4	10	16	16	16		
16	0	18	0	10	16	16	18		
17	0	18	4	10	16	16	18		
18	0	16	4	10	14	14	16		
19	0	18	4	10	16	16	18		
20	0	18	4	8	16	16	18		
21	0	18	4	10	16	16	18		
22	0	18	0	10	14	16	18		
23	0	18	4	10	14	16	18		
24	0	18	4	8	16	16	18		
25	0	18	0	10	16	16	18		
26	0	18	0	10	16	16	18		
27	0	16	0	10	16	16	16		
28	0	18	4	10	16	16	18		
29	0	18	0	8	16	16	18		
30	0	20	4	10	16	16	16		
31	0	18	0	10	16	16	18		
32	0	18	4	10	16	16	18		
33	0	18	4	10	16	16	18		
34	0	18	0	8	16	16	18		
35	0	18	4	10	16	16	16		
36	0	18	4	10	16	16	18		
37	0	18	0	8	16	16	18		
38	0	18	4	10	16	16	16		
39	0	16	0	10	16	16	18		
40	0	18	4	10	16	16	18		
Promedio	0.0	17.9	2.5	9.7	15.7	16.0	17.6		
Desviación	0.0	0.6	2.0	0.8	0.7	0.3	0.8		

También hacemos uso del cuadro de porcentaje donde nos refleja el grado de inhibición comparado con el control positivo de Claritromcina.

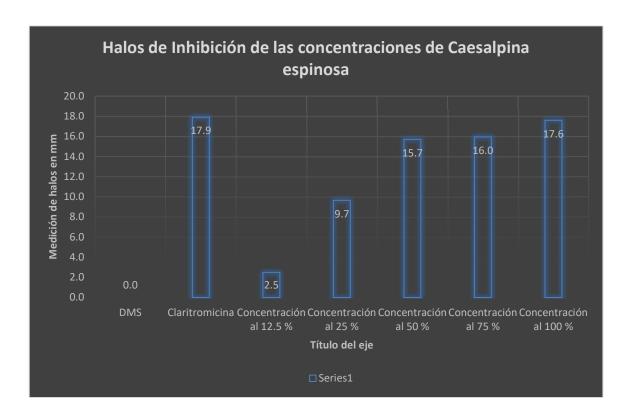


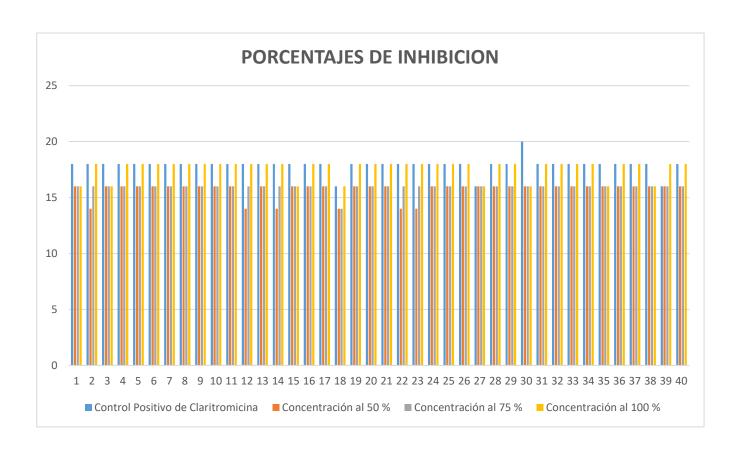
FIGURA 1. Halos de inhibición evidenciados por el extracto Etanoholico de las vainas de Caesalpinia Espinosa "Tara" al 12,5%, 25, 50, 75 y 100% frente al control positivo de la claritromicina del ensayo microbiológico contra la cepa bacteriana de S. aureus.

Este cuadro nos muestra los halos de inhibicion de las diferentes concentraciones de Tara. Tambien el control positivo de claritromicina y el control negativo de agaua destilada

Los resultados están dados en promedios y estos son los siguientes: el halo de a las hipótesis del control positivo (Claritromicina) tiene 17.9 mm, las concentraciones al 12.5% tienen un halo de 2.5 mm, la concentracion al 25% tiene un halo de 9.7mm la concentracion al 50% tiene un halo de 15.7mm, la concentracion al 75% tiene un halo de 16.0 mm y la concentracion al 100% tiene un halo de 17.6 mm, el control negativo (agua destilada) no presenta halo alguno.

FIGURA 2. Comparacion de los porcentaje de inhibicion de las concentraciones de extracto etanoholico de Tara con claritromicina

	Concentración al 12.5%	Concentración al 25%	Concentración al 50%	Concentración al 75%	Concentración al 100%	Control Positivo Claritromicina
Porcentajes	13.9	54.0	87.8	89.2	98.4	100

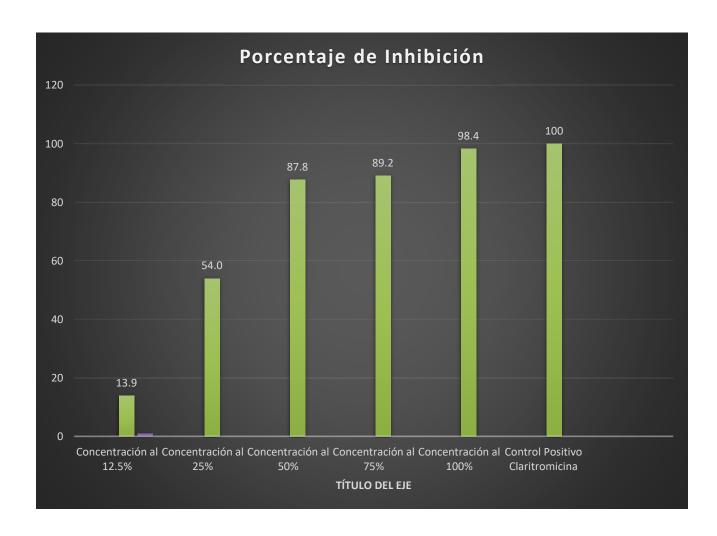


### FIGURA 3. Comparacion del porcentaje de inhibicion enla escala de Duraffourd a las 72 horas.

Para concluir se hicieron las pruebas para ver si las medias y varianzas de cada concentración comparado con el control positivo de Claritromicina son iguales, esto debe de ser favorable en los estadísticos para demostrar que la dosis y el control positivo trabajan de la misma forma; es decir que a una concentración del 100% trabaja igual que un control positivo estadísticamente hablando.

De igual forma se sabe que a partir de la concentración de 50%, 75% y 100% presentan una sensibilidad a la cepa de *Staphylococcus aureus* a partir de la escala de Duraffourd.

También hacemos uso del cuadro de porcentaje donde nos refleja el grado de inhibición comparado con el control positivo de Claritromcina.



#### IV. DISCUCIÓN

En nuestro país, varias plantas medicinales cultivadas aquí se han utilizado con fines medicinales desde la antigüedad. Los estudios de productos botánicos han utilizado técnicas de difusión en placa de disco o dilución en caldo o agar para probar la posible actividad antimicrobiana.

En la Evaluación antioxidante y antienzimatica in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcoholico de la Caesalpinia spinosa "Tara" Se llegó a validar el efecto antioxidante y antienzimatica de la Caesalpinia spinosa tara, el método que se utilizó fue experimental se llegó a mostrar un resultado la actividad antioxidante Estos resultados tienen soporte en la investigación de Quispe T. Lima UNMSM (2015).

Los resultados de este artículo proporcionan una base científica para el uso tradicional de Caesalpinia Spinosa como agente antiséptico y antiinflamatorio contra las infecciones del tracto respiratorio. Muchos de estos son causados por la bacteria staphylococos Aureus. Obtuvimos la actividad inhibidora de Staphylococcus aureus a la concentración de extracto etanólico al 100% de vainas de tara, que mostró valores de actividad antibacteriana en cepas de prueba para determinar químicos como flavonoides y taninos que tienen actividad antibacteriana utilizando el método CMI y el método de sensibilidad de Kirby Bauer .

De acuerdo con la escala de Durafourd, pudimos determinar que la cepa de estudio S. aureus tenía una actividad inhibitoria debido a que su valor de inhibición del halo estaba entre sensibilidad extrema y moderada. Los resultados están dados en promedios y estos son los siguientes: El halo de a las hipótesis del control positivo (Claritromicina) tiene 17.9 mm, las concentraciones al 12.5% tienen un halo de 2.5 mm, la concentracion al 25% tiene un halo de 9.7mm la concebtracion al 50% tiene un halo de 15.7mm, la concentracion al 75% tiene un halo de 16.0 mm y la concentracion al 100% tiene un halo de 17.6 mm, el control negativo (agua destilada) no presenta halo alguno. De acuerdo con la escala de Durafourd, pudimos determinar que la cepa de estudio S. aureus tenía una actividad inhibitoria debido a que su valor de inhibición del halo estaba entre sensibilidad extrema y moderada.

Otros estudidos que confirman la actividad terapéutica de la tara son de Núñez W. "Evaluación antioxidante y antienzimatica in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcoholico de la Caesalpinia spinosa "tara". (2015).

La investigación de este trabajo experimental, prospectivo y longitudinal cuyo objetivo fue llegar obtener el extracto hidroalcoholico haciéndolo como un macerado, la marcha fitoquímico y la determinación de la actividad antioxidante (DPPH y AB75) se llegaron encontraron presencia de fenoles, taninos, carbohidratos, flavonoides y alcaloides mostrando una leve actividad antiinflamatoria.

Y otro trabajo que demuestra la actividad antibacteriana de Caesalpinia spinosa tara es de Zárate M. "Efecto in vitro antibacteriano del extracto acuoso de Caesalpinia spinosa (tara) sobre cepas de Streptococcus pyogenes y escherichia coli aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo". (2014).

Se confirmó la actividad antibacteriana in vitro del extracto acuoso de Caesalpinia spinosa "tara" sobre aislamientos de Streptococcus pyogenes y Escherichia coli en el Hospital Provincial. El efecto obtenido con estos fármacos como amoxicilina, cotrimoxazol, utilizando cepas de Escherichia coli, puede compararse con el extracto de Caesalpinia spinosa con gentamicina, mostrando una sensibilidad alta pero inferior a la ciprofloxacina.

Estos resultados obtenidos en nuestro trabajo de investigación son consistentes con trabajos previos con Caesalpinia spinosa (taya); así Escobar, L; Chávez, M. (33) se diferencia únicamente en el método de extracción.

Se planean diversos estudios en farmacología, microbiología y fitoquímica para probar las propiedades medicinales de muchas plantas, considerando la necesidad de ofrecer nuevas alternativas de tratamiento con base en trabajos de investigación; Por tanto, este trabajo ha probado la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de vainas de Caesalpinia spinosa11 frente a Staphylococcus aureus.

Con el presente estudio se analizó el efecto antibacteriano del extracto etanohólico de Caesalpinia spinosa (Tara) en concentración de 100%, contra Stapylococus Aureus y demostró que tiene una alta capacidad bacteriostática casi similar a la de la claritromicina demostró un potencial antibacteriano en las primeras 24 horas, fue más

eficaz a las 48 horas con una inhibición media, y su efecto duró hasta 72 por lo tanto, está claro que el efecto antibacteriano y de larga duración del extracto de Tara 100% es casi igual a la claritromicina.

#### V. CONCLUSION

- En el extarco etanolico de las vainas de caesalpinia spinosa (Tara) se encontró
  metabolitos: flavonoides y taninos en abundante cantidad mediante espectroscopia
  UV visible.
- 2. El extracto etanolico de las vainas de caesalpinia Spinosa "tara" en las concentraciones de 75% y 100 % si influyen de modo significativo en el efecto antibacteriano de cepas de Staphylococuus aureus, in vitro.
- 3. La concentración al 100% del extracto etanolico de las vainas de caesalpinia spinosa "tara" presentó efecto inhibitorio en un 98.45% en cepas de staphylococcus aureus, in vitro. A diferencia de la claritromicina que tiene un efecto inhibitorio al 100%. Es decir que a una concentración del 100 % del extracto etanolico de caesalpinia spinosa tiene un efecto inhibitorio casi igual, pero no es igual que el control positivo de claritromicina estadísticamente hablando.

#### VI. RECOMENDACIÓN

- Realizar estudios del extracto acuoso de tara, en otras cepas que producen patologías en el ser humano.
- Realizar estudios referentes a efectos de plantas con propiedades terapéuticas nativas de nuestro país, ya que existen posibilidades de sinergia por revelar.
- Realizar mas estudios al extracto etanoholico de tara para determinar si poseen otras propiedades como antifungicas y antiinfalamatorias

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

- Barbaran J Infecciones por estafilococos JUNIO 2014 http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541214708030
- Benites Gómez Christian, efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de Caesalpinia Spinosa ("tara") sobre cepa de Cándida Albicas atcc 90028. http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/upaorep/1313/1/BENITES\_CHRISTIAN\_INHI BITORIO IN%20VITRO ETANOLICO.pdf
- 3. "composición química del aceite esencial de Caesalpinia spinosa tara" (2016), Evaluacion antioxidante y efecto antibacteriano frente a Staphylococcus mutans.http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/13636
- 4. efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso liofilizado de las hojas de brassica rapa i. (nabo silvestre) sobre las cepas de Staphylococcus aureus 25923 y Eschericha coli 25922
  - http://repositorio.uap.edu.pe/handle/uap/3784?mode=full
- 5. "Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanolico de Caesalpina spinosa ("TARA") sobre cepa de Candida albicans ATCC 90028. Trujillo. http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/1313
- 6. "Evaluación antioxidante y antienzimática in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcóholico de la Caesalpinia spinosa "tara"." http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4484
- 7. "Efecto in vitro antibacteriano del extracto acuoso de Caesalpinia spinosa (tara) sobre cepas de Streptococcus pyogenes y escherichia coli aisladas de pacientes del Hospital Regional Docente de Trujillo". http://journal.upao.edu.pe/PuebloContinente/article/view/284
- 8. "Actividad antibacteriana de caesalpinia spinosa (tara) sobre porphyromonas gingivales http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3723
- 9. "Evaluación in vitro del efecto antibacteriano de la Camellia sinensis (té verde) frente al Streptococcus mutans (ATCC 25175) y al Streptococcus sangunis (ATCC 10556) http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2898
- 10. Liu B. Humberto "Evaluación de la Actividad Antibacteriana in vitro de los Extractos de Caesalpinia spinosa "tara" y Eucalyptus sp. "Eucalipto" http://www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2002/Art7 Vol2 N1-2.pdf

- 11. Bernal S. Ruby. (2014) "Efecto del extracto hidroalcoholico de Punica granatum sobre la viabilidad de Staphylococcus aereus y Pseudomonas aeruginosa in vitro". http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/639/587
- 12. Cruz Carrillo,A,Rodriguez N,N, Rodriguez (2010) " Evaluacion in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de Bidens pilosa, Lantana Camara,Schinus molle y Silybum marianum".
- 13. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0123-42262010000200014&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- 14. Hernando C. (2008)"Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de caesalpinia spinosa ("tara") sobre cepa de Cándida albicans México
- 15. Http://Repositorio.Upao.Edu.Pe/Bitstream/Upaorep/1313/1/Benites\_Christian\_Inhibit orio In%20vitro Etanolico.Pdf
- 16. Delgado M. Teresa, (2000- 2004) "Estudio epidemiológico de Staphylococcus aereus resistentes a meticilina aislados en el Hospital Universitario de Canarias. http://docplayer.es/46930662-Estudio-epidemiologico-de-staphylococcus-aureus-resistentes-a-meticilina-aislados-en-el-hospital-universitario-de-canarias.html
- 17. Garcia L. Concepcion (2006) "Actividad antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de Staphylococcus aereus con resistencia multiple" http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/7580
- 18. Martinez A. Jordan (2012) "Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de hojas de Anacardium occidentale L. (marañón). Habana.

  <a href="http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci">http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci</a> arttext&pid=S1028-
- 19. Rincon P. Lina (2007) "Estudio del efecto antimicrobiano de aceite esencial de Minthostachuys mollis combinado con actividad térmica sobre cepas de Listeria monocytogenes y Bacillus Cereus. Bogota. http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis101.pdf
- 20. "Evaluacion in vitro del efecto antibacteriano de los extractos de Bidens pilosa, Lantana cámara, Schinus molle y Silybum marianum" .Colombia. http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a14.pdf
- 21. Actividad antimicrobiana de extractos de franseria artemisioides, rumex palustris, y piper asperifolium frente a staphilococcus aereus, eschericia coli y Pseudomonas. Aeroginisa.
  - http://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/538/TN-973.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- 22. "Epidemiologia de la resistencia a meticilina en cepas de Staphylococcus aureus aisladas en hospitales españoles" https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=3808
- 23. Núñez Enero Raomir Wilder Javie , Quispe Tapara Ruth "Evaluación antioxidante y antienzimática in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcóholico de la Caesalpinia Spinosa." tara"
  - ."http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/4484/1/Nu%C3%B1ez\_ew.pdf
- 24. . Tara Wikipedia, la enciclopedia librehttps://es.wikipedia.org/wiki/Tara https://es.wikipedia.org/wiki/Alcaloide
- 24. https://es.wikipedia.org/wiki/Flavonoide
- 25. Farmacognosia, 2009[Internet]. [Consultado el 10 de junio de 2018]. Disponible en: http://farmacognosia- .blogspot.pe/.
- 26. 11. Américo J. Castro, Norma J. Ramos, José R. Juárez, Julio R. Ruíz, Fritz F. Choquesillo, 2016 Composición química del aceite esencial de Caesalpinia spinosa "tara", evaluación antioxidante y efecto antibacteriano frente a Streptococcus mutans Vol. 19,
- 27. Carrillo F. E. Las leguminosas del valle del Rimac (Sub-Familias: Mimosoideae y Caesalpinoideae). Bol. Soc. Peruana Bot. 7(1/2): 40–68.(1974)
- 28. TARA (Caesalpinia spinosa) Perú Ecológicowww.peruecologico.com.pe/flo tara 1.htm
- 29. Sensibilidad antimicrobiana, 2012. [Internet]. [Consultado el 15 de marzo de 2018]. Disponible en: http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/04-determinacion-de-la-sensibilidad-metodo-de-dilucion-2012.pdf Alfonso R. Gennaro, Remington: Farmacia, 20º edición, Tomo 1 2003
- 30. Mueller, J. H.; Hinton, J. (1 de octubre de 1941). «A Protein-Free Medium for Primary Isolation of the Gonococcus and Meningococcus». Experimental Biology and Medicine 48 (1): 330-333. doi:10.3181/00379727-48-13311
- 31. Extracción de principios activos de planta Slideshare https://es.slideshare.net/Rennie533/extraccin-de-principios-activos-de-planta
- 32. Marcano D, Hasegawua M, Fitoquímica Orgánica. Caracas, 2002
- 33. EVALUACIÓN IN VITRO DEL EFECTO ANTIBACTERIANO DE LOS ... www.scielo.org.co/pdf/rudca/v13n2/v13n2a14.pdf

- 34. Microbiología general de Staphylococcus aureus Medigraphic www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf
- 35. Staphylococcus aureus Wikipedia, la enciclopedia libre https://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\_aureus
- 36. Evaluación de la actividad antimicrobiana de metabolitos secundarios ...Rev Cubana Farm v.40 n.2 Ciudad de la Habana Mayo-ago. 2006
- 37. Quispillo, J. "Separación, purificación y posible identificación de metabolitos secundarios del Escobillón Rojo (Callistemon speciosus)" [tesis]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013
- 38. Anaya, Lang, Ana Luisa. Ecología química, Plaza y Valdés, S.A. de C.V., 2003. ProQuest Ebook Central, http://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliouigvsp/detail.action?docID=322 1121. Created from bibliouigvsp on 2018-02-11 23:47:18.
- 39. Devlin, T. M. 2004. Bioquímica, 4.ª edición. Reverté, Barcelona. ISBN 84-291-7208-4
- 40.Secondary Metabolites and Plant Defense". En: Taiz, Lincoln y Eduardo Zeiger. Plant Physiology, Fourth Edition. Sinauer Associates, Inc. 2006. Capítulo 13
- 41. Ignacio De la Peña L, Larousse Diccionario Esencial Química. 1ª edición 2003.
- 42. Fernández L, Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 18ª edición 2008.
- 43.Riaño Cabrera N, Fundamentos de química analítica básica. Análisis cuantitativo. 2ª edición 2007.
- 44. Sacsaquispe Contreras R, Velásquez Pomar J. Manual de Procedimientos para la prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el método de disco difusión. INS. Lima 2002.
- 45. Salazar, L. "Efecto antimicrobiano de extractos de Allium sativum L. "ajo" sobre• el crecimiento in vitro de Escherichia coli ATCC 25922 y Staphylococcus aureus ATCC 25923". Piura, Perú 2014.

#### **ANEXOS**

Anexo Nº 1. Matriz de Consistencia.

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABL ES	DIMENSIONE S	INDICA DORES	METODOLOGÍA
Cuál es la actividad	Determinar la actividad	La actividad antibacteriana, in	V.I.	-Tamizaje	Identificacion	DISEÑO
antibacteriana, in vitro, de	antibacteriana, in vitro, del	vitro, del extracto etanólico de de	Extracto	fotoquími-	metabolitos	Experimental
extracto etanólico de las vainas	extracto etanólico de las vainas	las vainas de Caesalpinia	etanolico de	со	secundarios	tranversal y
de <i>Caesalpinia Spinosa</i> (Tara). En	de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara). En	spinosa (Tara). En cepas de	de las			prospectivo.
cepas de Staphylococcus aureus.	cepas de Staphylococcus aureus.	Staphylococcus aureus, es	vainas de	-Actividad	Diámetro del	TIDO V NIIVEI
_	_	altamente eficaz.	Caesalpinia	antimicrobi	Halo de	TIPO Y NIVEL.
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	_	spinosa (Tara)	ana	inhibición	Cuantitativo explicativo y
1. ¿Qué metabolito secundario	1. Identificar metabolito	HIPOTESIS ESPECÍFICAS	(Tala)			aplicativo.
presenta en mayor	secundario presentes en mayor					apricative:
concentración el extracto	concentración el extracto	1. Existen metabolitos secundario				
etanolico de las vainas	etanolico delas vainas de	con mayor presencia en el				POBLACION Y
de <i>caesalpinia spinosa</i> (Tara)?	caesalpinia spinosa(Tara)	extracto etanolico de de las vainas				MUESTRA.
		de caesalpinia spinosa (Tara).	V. D.			POBLACION.
2. ¿En qué concentración el	2. Determinar la concentración		*. 5.			Especies de
extracto etanólico de las vainas	del extracto etanólico de las	2. Existe una concentración del	Actividad			caesalpinia
de <i>caesalpinia spinosa</i> (Tara)	vainas de <i>caesalpinia</i>	extracto etanólico de las vainas de	bacteriana			spinosa (tara) de la
posee efecto antibacteriana en	spinosa (Tara) que posee efecto	de caesalpinia spinosa (Tara) con	del			zona de distrito de
cepas de staphylococcus aureus	antibacteriano en cepas de	efecto antibacteriano. En cepas de	Stafilococcus			Churin departamento
in vitro?	staphylococcus aureus in vitro.	staphylococcus aureus in vitro.	aureus			de lima.
2 1 2 (1 2 1 2 2 2 2 2 1 2 1	2	2 Floring to the Alberta				MUESTRA: Se
3. ¿cuál es la actividad	3. comparar la actividad	3. El extracto etanólico de de las				usaron vainas de
antibacteriana del de extracto	antibacteriana del extracto	vainas de <i>caesalpinia</i>				caesalpinia
etanólico de las vainas	etanólico de de las vainas de	spinosa (tara). En cepas de				spinosa (tara)
de <i>caesalpinia spinosa</i> (tara) . En	caesalpinia spinosa (tara). En	staphylococcus aureus comparado				recolectadas en el
cepas de staphylococcus aureus	cepas de staphylococcus aureus	con claritromicina tiene				distrito de Churin
comparado con claritromicina	comparado con la claritromicina	efectividad positiva.				
in vitro?			1			

# ANEXO 2. VALORACION JUICIO DE EXPERTOS



### UNIVERSIDAD PRIVADA DE HUANCAYO "FRANKLIN ROOSEVELT" RESOLUCIÓN N°571-2009-CONAFU

# ESCUELA PROFESIONAL CIENCIAS FARMACEÚTICAS Y BIOQUÍMICA

Av. Giráldez N°542 - Huancayo Huancayo, 19 de julio del 2022

CARTA Nro.01-2022-FPY/CSR

Señor (a): DR. Q.F

**PRESENTE** 

ASUNTO: VALIDEZ DE INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

Por medio del presente me dirijo a Ud. Para saludarle cordialmente y solicitarle su participación en la validez de instrumentos de investigación a través de "juicio de expertos" del proyecto de investigación que estoy realizando, para obtener el título profesional; teniendo como tesis titulado "EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, IN VITRO, DEL EXTRACTO ETANOHOLICO DE LAS VAINAS DE CAESALPINIA SPINOSA (TARA) EN CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS"

Para lo cual adjunto:

- Formato de apreciación al instrumento: formato A y B.
- Matriz de consistencia.
- Operacionalización de variables.
- Instrumento de recolección de datos.

Esperando la atención del presente le reitero a Ud. Las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente,	
	Bach. Nélida Fernández Pérez
	DNI: 41239436



#### FORMATO: A

Indicación: Señor(a) calificador se le pide su colaboración para que luego de un riguroso análisis de los ítems de la hoja de recolección de datos del trabajo de investigación que le muestro, seleccione el casillero que crea conveniente de acuerdo a su criterio.

#### VALIDEZ DEL INSTRUMENTO DE INVESTIGACION POR JUICIO DE EXPERTO

Investigadora: Bach. Nelida Lilebet Fernandez Perez.

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, IN VITRO, DEL EXTRACTO ETANOHOLICO DE LAS VAINAS DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) EN CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS.

#### FICHA DE OBSERVACION DE RECOLECCION DE DATOS

NOTA: Para cada ítem se considera la escala del 1 a 5 donde:

1= Muy Deficiente   2= Deficiente   3= Regular	4=Bueno	5= Muy Bueno
--	---------	--------------

#### Dimensión: CONCENTRACIONES

- 1. Extracto etanoholico de las vainas de caesalpinia spinosa (tara).
  - a) al 12.5%
  - b) al 25 %
  - c) al 50%
  - d) al 75%
  - e) al 100%
- 2. características organolépticas
  - a) color
  - b) olor
  - c) aspectos
- 3. composición quimica.
  - a) Alcaloides
  - b) Compuestos fenólicos
  - c) Taninos
  - d) Cumarinas
  - e) Flavonoides

RACIOLI	'ANOHOLICO DE I	LAS VAINAS	DE CAESAI	LE IIVIA SE IIVOSA	1	2	3	4
	DIMENCIO	N: CONCEN	TRACIONES	S	1	2	3	4
¿Pres	abolitos secunda	rios el extracto	o etanolico de	Caesalpinia spino	sa			
(tara)?	Si			No	J			
¿Presentara	actividad antibacter	ana el extracto	o etanolico al	100 % de las vaina	s			
de Caesalpii	nia spinosa (tara) pos	see efecto?						
Si		No						
¿Presentara	actividad antibacter	ana el extracto	o etanolico al	50 % de las vainas				
de Caesalpii	nia spinosa (tara) po	see efecto?						
Si		No						
¿Presentara	actividad antibacter	ana el extracto	o etanolico al	25 % de las vainas				
de Caesalpii	nia spinosa (tara) po	see efecto?						
Si		No						
	la actividad antibacto spinosa (tara), en ce na in vitro?							
Si		No						
	DIMENCION: C.	ARACTERIST	ΓICAS ORGA	ANOLEPTICAS				
Color Olor Aspecta								
	DIN	MENCION: CO	OMPOSICIO	N QUIMICA	I	1		
ALCALOII	DES	SI	NO					

TANINOS	SI	NO			
CUMARINAS	SI	NO			
FLAVONOIDES	SI	NO			

VARIABLE 2: EFECTO ANTIBACTERIAN	Ю				
CEPAS DE staphilococus aureus ATC 25923	1	2	3	4	5
DIMENCION: Halos Inhibitorios	1	2	3	4	5
Medicion del diámetro de los halos formados en el medio de cultivo, según  El método de Kirby.  Resistente					
Macroscopica UFC Presente					



#### **FORMATO: B**

#### FICHAS DE VALIDACIÓN DEL INFORME DE OPINIÓN POR JUICIO DE EXPERTO

#### I. <u>DATOS GENERALES</u>

Título de la Investigación: "EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA, IN VITRO, DEL EXTRACTO ETANOHOLICO DE LAS VAINAS DE *CAESALPINIA SPINOSA* (TARA) EN CEPAS DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS."

#### II. ASPECTOS DE VALIDACIÓN

Indicadores	Criterios		efici	ien	te	Ba	ja			Re	gul	ar		Buena				Mı	uy]	Bue	ena
		5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
1. Claridad	Está formulado con lenguaje apropiado																X				
2. Objetividad	Está expresado en conductas observables																X				
3. Actualidad	Adecuado al avance de la ciencia pedagógica	L															X				
4. Organización	Existe una organizaciónlógica																X				
5. Suficiencia	Comprende los aspectos en cantidad y calidad																X				
6. ntencionalidad	Adecuado para valorar los instrumentos de investigación																X				
7. Consistencia	Basado en aspectos teóricos científicos																X				
8. Coherencia	Entre los índices e Indicadores																X				
9. Metodología	La estrategia responde al propósito del diagnóstico																X				

<sup>&</sup>quot;Nombre del instrumento motivo de evaluación : Ficha de recolección de datos

10. Pertinencia	Es útil y adecuado para								X		
	la Investigación										

#### PROMEDIO DE VALORACIÓN

4

#### OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) muy buena Nombres y Apellidos :

Dr. QF José Edwin Rodríguez Lichtenheldt.

DNI N°10734121

Dirección domiciliaria: Av. Bolivia 1109. Dpto 1512 - Breña Título Profesional:

Químico Farmacéutico

Grado Académico : Doctor en Farmacia y Bioquímica

Firma

*DNI: 10734121 Lugar y fecha: 12 de Agosto del 2022* 

#### PROMEDIO DE VALORACIÓN

80

#### OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Dr. QF José Edwin Rodríguez

Lichtenheldt. DNI N° 10734121

Dirección : Av. Bolivia 1109. Dpto 1512 - Breña

domiciliaria

Título Profesional : Químico Farmacéutico

Grado Académico : Doctor en Farmacia y Bioquímica

Firma

DNI: 10734121

#### PROMEDIO DE VALORACIÓN:

4

#### OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Mg. Diaz Uribe, Julio Luis.

DNI N° : 07247790

Dirección domiciliaria : Av Canevaro 742-902 Lince

Título Profesional : Químico Farmacéutico

Grado Académico : Magister

Mención : Ciencia de los alimentos

**FIRMA** 

#### PROMEDIO DE VALORACIÓN

80

#### OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Mg. Diaz Uribe, Julio Luis.

DNI N° : 07247790

Dirección domiciliaria: Av Canevaro 742-902 Lince

Título Profesional : Químico Farmacéutico

Grado Académico : Magister

Mención : Ciencia de los alimentos

17-31

Firma

#### PROMEDIO DE VALORACIÓN.

4

#### OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muydeficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Mg. Miranda Paredes Jean Paul.

DNI N° : 10118769

Dirección domiciliaria : Jr. Emilio de los Ríos Nº 5450 Los Olivos

Título Profesional : Maestro en docencia universitaria y gestión educativa

Grado Académico : Magister

Firma

DNI: 10118769

#### PROMEDIO DE VALORACIÓN.

80

#### OPINIÓN DE APLICABILIDAD

1) Muy Deficiente 2) Deficiente 3) Regular 4) Buena 5) muy buena

Nombres y Apellidos : Mg. Miranda Paredes Jean Paul.

DNI N° : 10118769

Dirección domiciliaria : Jr. Emilio de los Ríos Nº 5450 Los Olivos

Título Profesional : Maestro en docencia universitaria y gestión educativa Grado

Académico : Magister

Firma

DNI: 10118769

#### ANEXO 3 . IDENTIFICACION TAXONOMICA DE CAESALPINIA ESPINOSA "TARA"



### UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

#### CONSTANCIA Nº 204-USM-2018

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

La muestra vegetal (frutos) recibida de Doris Angelica Tisnado Cueva; estudiante de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, ha sido estudiada y clasificada como: *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA** 

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA** 

SUBCLASE: ROSIDAE

**ORDEN: FABALES** 

**FAMILIA: CAESALPINACEAE** 

GENERO: Caesalpinia

ESPECIE: Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze

Nombre vulgar: "Tara"

Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría

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

Lima, 25 de mayo de 2018

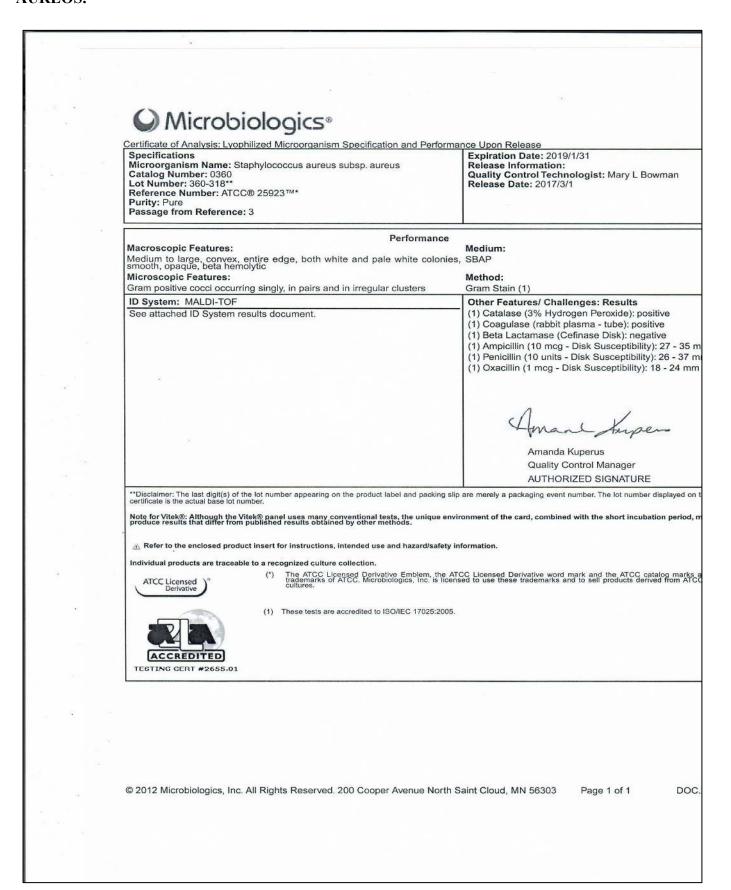
ACE/ddb

ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA E DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú 619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: museohn@unmsm.edu.pe http://muscohn.unmsm.edu.pe

# ANEXO 4. CERTIFICADO DE CALIDAD DE LA CEPA STAPHYLOCOCOOS AUREOS.



# ANEXO 5. RESULTADO DE ESPECTROFOTOMETRIA DE EVALUACION DE TANINOS TOTALES.

.2652	SER	VICIO DE CO	ONTR	OL D	E CA	ALIDAD				FQ-I	y Versión: 7R-035.00
	ÁRE	A DE ANÁLIS	IS FÍS	icos	Y QI	UÍMICOS					de Emisión: 16-01-11
*** **********************************	REPORTE DE	E CONTENIDO P	OR ESP	ECTRO	OFOT	OMETRÍA U	v- Vis	8		Pág	ina 1 de 1
DATOS DEL PRODUCTO:	20010							11			
Nombre: Presentación:		RA O DE TARA		-		icante: a de Vencimi	iento:		7.000	S/F	
Lote:						na Técnica:	ento.	Técr		erna SCC	-UPCH
Código SCC-UPCH:					Fech	a de análisis	:			8-02-20	2.00.00.007.200
SISTEMA ESPECTROFOTOMETRIC	O:										
Equipo:	ESPECTROFOTO	OMETRO UV-VIS			(	Código:	EQ-	FQ-32			
Longitud de onda:	700 nm										
DATOS DEL ESTÁNDAR:											
Nombre: ACIDO TANICO	Primario:	100		Secu	ndario		1	Workin	g Std:		٧
	LOTE:	K24140673 72	7			encimiento:	Vige	nte a la fe			
Potencia:		100.0	% T/C	Códi	go:						
Peso molecular en forma de Sal:					edad:		%				
Peso molecular en forma de Base:		3=3									
Peso:		25.3	mg	Volu	men e	nrase:		100	mL		
Volumen de dilución 2:		20	mL			e enrase 2:		100	mL		
Volumen de dilución 3:		4	mL	Volu	men d	e enrase 3:		25	mL		
	М	UESTRA 1		0RBAN 02170							
		2	1000000	02221							
		3	0.0	02055	2						
	P	romedio	0	.00215		1					
DATOS DE LA MUESTRA	TA	RA									
		4	121.000			men de enras			250		(ml)
Peso o volumen de mues	stra 1	4	mL			men de diluci men de enras		_	3 50		(ml) (ml)
						men de diluci			1		(ml)
					Volu	men de enras	e 3:		25		(ml)
CÁLCULOS:											
	MUESTRA Tara	0.00236		ORBAN .00237	CONTRACTOR CONTRACTOR	0.00218					
		0.00250		.00257		0.00210					
MUESTRA Tara	231.3414	mg/mL 232.7444	214.:	3587	PR	OMEDIO	232	.0429			
7.0.0	20110111	2021, 111	2211	3007		ONLEGIC	202	10 127			
RESULTADOS:			232.04	1 mg de	Ácide	o Tánico/mL o	de mue	estra			
ESPECIFICACIONES/ OBSERVACIO CONCLUSIÓN:	NES Los T	aninos Totales se	expresa	ın en m	200	ivalentes de Á	cido T	ánicoGal	ico /ml	L de mue	stra
CONCLUSION											
E.Olivar								20	01802	-2C =	anli-
ANALISTA									A DE RE		DELA

# ANEXO 6. RESULTADO DE ESPECTROFOTOMETRIA DE EVALUACION DE FLAVONOIDES TOTALES.

AREA DE ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS					SERV	ICIO DE CO	ONTRO	OL DE	C/	ALIDAD				go y Versión: -FR-035.00
DATOS BEL PRODUCTO:   Nombre:   TARA	4	TANA			ÁREA	DE ANÁLIS	IS FÍS	icos y	QI	UÍMICOS				
Nombre   Fabricantes   Fabri	50 A	ABLA S		RE	PORTE DE	CONTENIDO P	OR ESP	ECTROF	от	OMETRÍA Uv	- Vis		Pá	igina 1 de 1
Presentación:   Extracto de Tara   Secha de Vencimiento   SF		L PRODUCTO:	80			-50				80				
ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS	Presentaci Lote:		·		Extracto	le Tara 		F	ech lorr	a de Vencimio na Técnica:	ento:	Técnica Inte	S/F erna SC	
Nombre:   QUERCITINA	Equipo:		OMETRIC						(	Código:	EQ-l	FQ-32		
LOTE   A104792 812   Fecha de Vencimiento:	DATOS DEI	L ESTÁNDAR:									-			
Peso molecular en forma de Sal: Peso: Peso molecular en forma de Base: S	Nombre:	QUERCI	ΓINA											
Description   Solid		ular en forma	de Sal:		1		% T/C			T/S/IICT	_ %			
24 ug /ml Vol. dilación 1; 12 ml Vol. enrase 1: 50		ular en forma	de Base:	-	!		mg	Volume	en c	nrase;		50 mL		
Martin   M		Vol. dilución 1:			100 ug /mL			_		200 ug /mL				_
DATOS DE LA MUESTRA														
0.02405		mg/mL				Absorbancia				CURVA D	E CALI	BRACION		
D.0.2405   1			1		0.02405	100000000000000000000000000000000000000								
0.10020								.)	y = 6.7 R	7437x - 0.0033 2 = 0.9999			-	
0.10020		0.10020			0.10020	0.66631	1.00000							
0.20040   1   0.20040   1.34230   0.20040   1.34230   0.20040   1   0.20040   1.35360   0.20000   0.20040   1   0.20040   1.35360   0.20000   0.20000   0.20040   1   0.20040   1.35360   0.200000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.200000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000000000							0.80000							
0.20040   1   0.20040   1.34880   0.200000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.200000   0.200000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.200000   0.200000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.200000   0.200000   0.20000   0.20000   0.20000   0.20000   0.200000   0.200000   0.200000   0.20000   0.200000   0.20000   0.20000   0.20000														
D.20040   1   D.20040   1.35360   D.20000   D.200000   D.200000   D.200000   D.2000000   D.2000000   D.2000000000000000000000000000000000000				- 8	The state of the s	The second contract of								
y = bx ± a					THE RESIDENCE PRODUCTION OF THE PERSON OF TH	The second contract of	0.00000		0.	05 0.1		0.15	0.2	0.25
ECUACIÓN DE LA RECTA: Y = 7.744 x - 0.003 b: 6.744  DATOS DE LA MUESTRA  TARA  Peso o volumen de muestra: 0.20 (mL) Volumen de enrase: 20 (ml)  CÁLCULOS:  MUESTRA ABSORBANCIA MUESTRA 1 0.96123 0.95450 0.96772  MUESTRA 14.2049 14.1051 14.3011 0.6901 14.20  RESULTADOS: 14.20 mg de Quercitina/ mL de extracto  ESPECIFICACIONES/ OBSERVACIONES: Los Flavonoides Totales se expresan en mg equivalentes de Quercitina / mL de extracto  CONCLUSIÓN:									-		iancia		12)	
DATOS DE LA MUESTRA					y =	bx ± a								
DATOS DE LA MUESTRA		ECUACIÓN D	E LA RECT	`A:	Y = 7.74	14 x - 0.003				(7)(1)(1)(1)(1)				
CÁLCULOS:           MUESTRA MUESTRA AI 0.96123 0.95450 0.96772           MUESTRA MUESTRA MESTRA MESTR	DATOS DE	LA MUESTRA			Т	ARA		D;		6.744				
CÁLCULOS:           MUESTRA MUESTRA AI 0.96123 0.95450 0.96772           MUESTRA MUESTRA MESTRA MESTR		Peso o volum	en de mue:	stra:		0.20	(mL)	v	olu	men de enrase	:	20		(mi)
MUESTRA A1	15													
MUESTRA A1   0.96123   0.95450   0.96772	CÁLCULOS	:												
RESULTADOS:  RESULTADOS:  Los Flavonoides Totales se expresan en mg equivalentes de Quercitina /mL de extracto  CONCLUSIÓN:  14.20 mg de Quercitina / mL de extracto  Los Flavonoides Totales se expresan en mg equivalentes de Quercitina /mL de extracto						0.96123			A	0.96772				
ESPECIFICACIONES/ OBSERVACIONES: Los Flavonoides Totales se expresan en mg equivalentes de Quercitina /mL de extracto CONCLUSIÓN:					14.2049		14	4.3011					<u> </u>	
ESPECIFICACIONES/ OBSERVACIONES: Los Flavonoides Totales se expresan en mg equivalentes de Quercitina /mL de extracto CONCLUSIÓN:	RESULTAD	oos:				14.20	) mg de (	Ouercitir	na/	mL de extrac	to			
E.OLIVAR 2018-03-06	ESPECIFIC.	ACIONES/ OB	SERVACIO	NES	Los			xpresan e	en n			uercitina /mL d	e extra	cto
ANALISTA FECHA DE REPORTE														to <sup>2</sup> 6

#### **ANEXO N° 7. EVIDENCIAS DE TRABAJO EN CAMPO**

FIGURA 4 Recolección del material vegetal caesalpinia spinosa (tara).



FIGURA 5 . Preparación del material vegetal caesalpinia spinosa (tara)

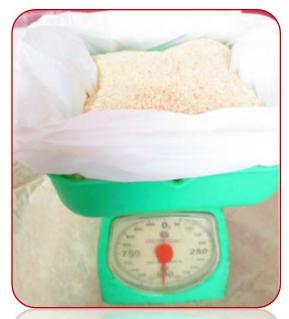


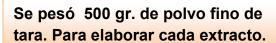
Se lavó con 2 gotitas de cloro más agua destilada y secado al ambiente por 2 días



Se procedió a retirar las semillas

FIGURA 6. Preparación del extracto acuoso y etanoholico.







Se adiciono 2000 ml. De solvente agua o alcohol. Ambos macerados se preparan en frasco de color ámbar



Después del macerado se ha procedido a filtrar:

- -1<sup>ro</sup> con papel filtro wahtnann N°41
- -2<sup>do</sup> con papel filtro whatnann N°2
- -3ro con papel filtro whatnann N°1

FIGURA 7. Pruebas de Solubilidad en el extracto etanoholico.

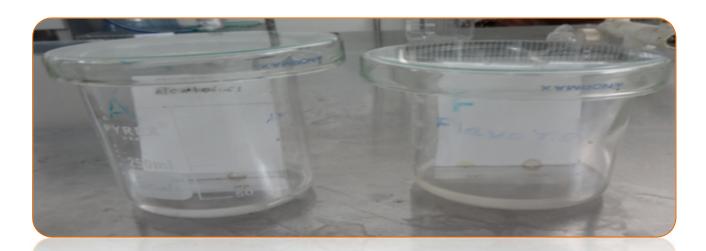


<u>Resultados</u>. El extracto etanolico es soluble en etanol, cloroformo, agua purificada, 2 propanol.

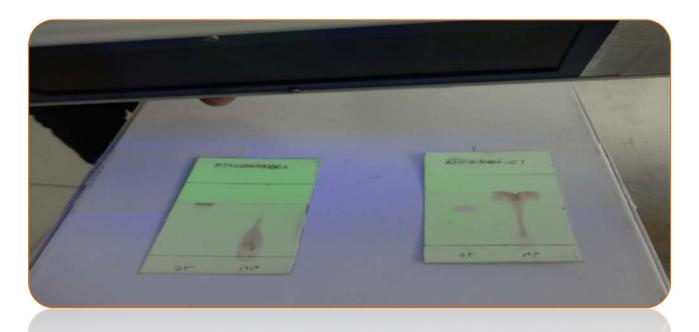
FIGURA 8. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.

Cromatografía- Alcaloides.

Cromatografía - flavonoides



Ambas muestra se introduce la fase estacionaria deja en la fase móvil correspondiente para cada uno y se espera el recorrido.



#### Resultado.

Se observó manchas de color naranja Esto indica presencia de alcaloides de la muestra en análisis "Tara".

Se observó el color característico de manchas de color amarillo Esto indica presencia de flavonoides de la muestra en análisis "Tara"

#### FIGURA 9. ESPECTROFOTOMETRÍA EN EL UV-VIS.





Para la identificación de alcaloides en la muestra se rosea como revelador. Ácido sulfúrico al 2 % y luego el reactivo de Dragendorff; Para la identificación de flavonoides se usa como revelador el tricloruro de aluminio.

#### b. Cuantificación de Taninos Totales



La determinación del contenido de Tainos, se hizo utilizando la espectrofotometría ultravioleta-visible Para la muestra se tomó 4 mL del extracto y se procedió como la preparación del estándar.

#### FIGURA 10. ENSAYO MICROBIOLÓGICO.







Se preparan las soluciones 12.5 % 25 % ,50%, 75% ,100%



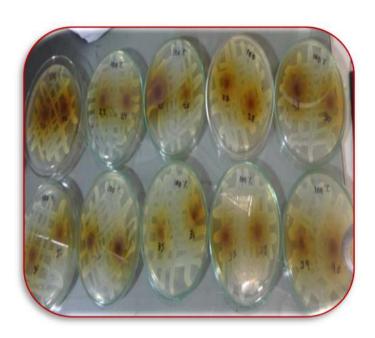


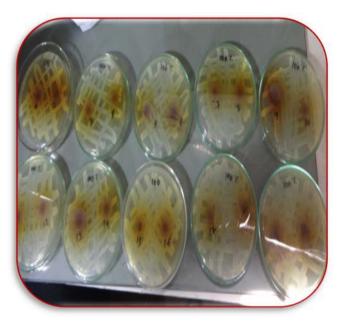




Se muestra los halos de inhibición en lo concentración al 100 % del extracto hidroalcoholico de tara

#### FIGURA 11. MEDICION DE LOS HALOS DE INHIBICION

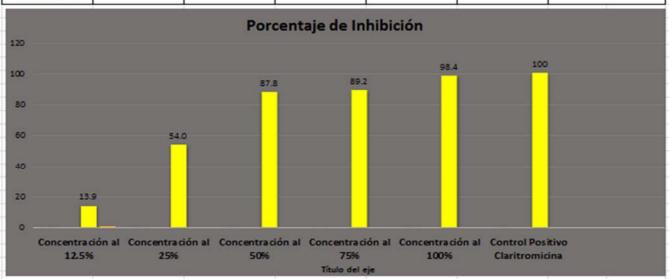




Se procedió a guardar las placas Petri con sus respectivos porcentajes de la muestra en la estufa, se verá su crecimiento de halo de inhibición.

# FIGURA 12 RESULTADO FINAL. COMPARACION DE LOS PORCENTAJES DE INHIBICION

	Concentración al	Control Positivo				
	12.5%	25%	50%	75%	100%	Claritromicina
Porcentajes	13.9	54.0	87.8	89.2	98.4	100



Finalmente realizamos el análisis de los datos estadísticos y elaboramos las tablas con los resultados obtenidos