



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

Evaluación del efecto antibacteriano, in vitro, del extracto etanolico *Caesalpinia spinosa* (Tara) en cepas de *Staphylococcus aureus atcc25923*

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO
PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTORES:

Bach. TISNADO CUEVA DORIS ANGELICA.

Bach. HURTADO GUIA EDDY JESUS

ASESOR:

Mg. QF. QUEZADA REYES ANTONIO FERNANDO

LINEA DE INVESTIGACIÓN

RECURSOS NATURALES

Lima – Perú

2021

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación está dedicado a las personas que influyeron en nuestra formación profesional, y nuestra familia que siempre estuvieron ahí para darnos su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, por darnos la oportunidad para concluir el proceso de titulación y poder demostrar nuestros conocimientos adquiridos.

A mi asesora de Tesis Mg Q.F. Quezada Reyes Antonio Fernando,

ÍNDICE

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE	iv
RESUMEN	viii
ABSTRAT	ix
I. INTRODUCCION	1
II. METODOLOGIA.....	16
2.1 Tipo y diseño de investigación.....	16
2.2 Operacionalizacion de variables.....	17
2.3 Población, muestra y muestreo.....	17
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	18
2.5 Procedimiento.....	18
2.6 Método de análisis de datos.	29
2.7 Aspectos éticos.	29
III. RESULTADOS	30
IV. DISCUSIÓN.....	43
V. CONCLUSION	44
VI. RECOMENDACIÓN.....	45
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA	46
VII. ANEXOS	43

ÍNDICE DE CUADRO

Cuadro N° 1: composición química de la “Tara”	8
Cuadro N° 2: Operacionalizacion de variables	17
Cuadro 3: Reactivos utilizados en nuestro trabajo.....	24
Cuadro N° 4: Resultados de identificación de metabolitos secundarios.	30
Cuadro N° 5: Identificación de alcaloides.....	31
Cuadro N° 6: Identificación de compuestos Fenólicos y Flavonoides.....	32
Cuadro N° 7: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 12.5% en cepas de Staphylococcus aureus atcc25923	37
Cuadro N° 8: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 25% en cepas de Staphylococcus aureus atcc25923	38
Cuadro N° 9: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 50 % en cepas de Staphylococcus aureus atcc25923	39
Cuadro N° 10: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 75% en cepas de Staphylococcus aureus atcc25923	40
Cuadro N° 11: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 100% en cepas de Staphylococcus aureus atcc25923	41

ÍNDICE DE FIGURA

Figura N° 1: Caesalpinia Spinosa “Tara”	8
Figura N° 2: Estructura básica de un flavonoide.....	10
Figura N° 3: Estructura química de un tanino ácido gálico	10
Figura N° 4: Estructura de terpeno (caroteno).	10
Figura N° 5: Formula de una cafeína un alcaloide estimulante	11
Figura N° 6: Dos formas diferentes de un fenol.....	11
Figura N° 7: Origen de alcaloides, fenilpropanoides, terpenos algunos y los ejemplos de productos del metabolismo secundario.	12
Figura N° 8: Metabolitos secundarios y sus rutas metabólicas.	12
Figura N° 9: Modo de acción de los antibacterianos.....	13
Figura N° 10: Imagen del Staphylococcus aureus.....	14
Figura N° 11: Espectrofotómetro Uv-Vis.	23
Figura N° 12: Materiales utilizados para la Prueba de espectrofotometría En El Uv-Vis.	23
Figura N° 13: Materiales para la Cuantificación de Taninos Totales.....	24
Figura N° 14: Preparación de Agar Manitol salado.....	26
Figura N° 15: Inoculación de la cepa Staphylococcus aureus.....	26
Figura N° 16: Crecimiento de cepa de Staphylococcus aureus en el medio de cultivo agar Mueller –Hinto.....	27
Figura N° 17: Agar Mueller-Hinton	27
Figura N° 18: Concentraciones de Staphylococcus aureus.....	28
Figura N° 19: Incubación de las placas sembrada con Staphylococcus Aureus con los discos de extractos etanolico de “tara”	29
Figura N° 20: Identificación de alcaloides.....	31
Figura N° 21: Identificación de compuestos Fenólicos y Flavonoides	32
Figura N° 22: Identificación de Alcaloides por cromatografía de capa fina	34
Figura N° 23: Identificación de Alcaloides por cromatografía de capa fina.....	34
Figura N° 24: Resultados de espectrofotometría en el UV-VIS para flavonoides.....	35
Figura N° 25: Resultados de espectrofotometría en el UV-VIS para Taninos totales ..	36

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo N° 1: Matriz de Consistencia.....	43
Anexo N° 2: Identificación taxonómica de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara).....	45
Anexo N° 3: Identificación de la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>	46
Anexo N° 4: Ficha de recolección de datos.....	48
Anexo N° 5: Evidencia de la recolección del vegetal <i>Caesalpinia spinosa</i> (tara).....	49
Anexo N° 6: Evidencia de la preparación del extracto etanolico.....	52
Anexo N° 7: Evidencia del Screening Fitoquímico – para la identificación de Metabolitos Secundarios.....	53
Anexo N° 8: Evidencia de la cromatografía en capa fina.....	54
Anexo N° 9: Evidencia del ensayo microbiológico.....	55
Anexo N° 10: Evidencia de la preparación de las concentraciones del extracto etanolico.....	56
Anexo N° 11: Preparación de los discos en distintas concentraciones del extracto etanolico.....	57
Anexo N° 12: Preparación de los discos para la determinación del efecto antibacteriano con las distintas concentraciones del extracto etanolico.....	58
Anexo N° 13: Lectura de los discos para la determinación de la inhibición de las distintas concentraciones del extracto etanolico.....	59

RESUMEN

Este estudio de investigación tiene como **Objetivo general:** Evaluar el efecto antibacteriano in vitro, del extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara). En cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 siendo nuestros **Objetivo específico:** Determinar la evaluación del efecto antibacteriano del extracto etanolico *Caesalpinia spinosa* (Tara) en cepas *Staphylococcus aureus* ACTT 25923 comparado con un antibiótico. Determinar la concentración del extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) para su efecto antibacteriano en las cepas *Staphylococcus aureus* ACTT 25923, Identificar metabolitos secundarios se encuentran presentes en una concentración mayor que el extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara). ACTT25923. **Metodología:** Este trabajo corresponde a un método científico, no descriptivo, con diseño experimental donde se realizó el tamizaje fitoquímico cualitativo para identificar los principales metabolitos secundarios del extracto etanolico obtenido de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (Tara), lo cual se obtuvo mediante un método de filtración y maceración. Además, de las observaciones del crecimiento de microorganismo de las cepas de *Staphylococcus aureus* ACTT 25923 en las respectivas placas Petri. donde se realizaron los estudios en distintas concentraciones del extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) al 12.5%, 25%, 50%, 75% y 100% donde se llevó a encubar a de 37 °C. llevando un control de lectura cada 24 horas para poder observar en crecimiento de los halos. **Resultados:** en el extracto etanolico de la “Tara”. se identificó alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos presentes en el extracto, siendo las concentraciones de (75% y 100%) los que lograron tener actividad antimicrobiana de los cuales fueron comparados con grupo de control (claritromicina) lo cual demostró que las concentraciones del extracto al 100% presento un efecto inhibitorio en un 98.45%. **Conclusiones:** El tratamiento a *Staphylococcus aureus* ACTT 25923 con el extracto etanolico *Caesalpinia spinosa* (tara) mostraron una menor eficacia. En comparación al antibiótico de claritromicina lo cual que es posible el tratamiento alternativo.

Palabra clave: *Caesalpinia spinosa* (Tara), *Staphylococcus aureus*, efecto antibacteriano, metabolitos secundarios.

RESUME

This research study has the general objective: To evaluate the antibacterial effect in vitro, of the ethanol extract of *Caesalpinia spinosa* (Tara). In strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 being ours Specific objective: To determine the evaluation of the antibacterial effect of the ethanol extract *Caesalpinia spinosa* (Tara) in strains *Staphylococcus aureus* ACTT 25923 compared with an antibiotic. To determine the concentration of the ethanol extract of *Caesalpinia spinosa* (Tara) for its antibacterial effect in the *Staphylococcus aureus* ACTT 25923 strains. Identify secondary metabolites are in the pods of *Caesalpinia spinosa* (Tara), which was obtained by a method filtration and maceration. In addition, the observations of the microorganism growth of the *Staphylococcus aureus* ACTT 25923 strains in the respective Petri dishes. where the studies were carried out in different concentrations of the ethanol extract of *Caesalpinia spinosa* (Tara) at 12.5%, 25%, 50%, 75% and 100% where it was concealed at 37 ° C. taking a reading control every 24 hours to be able to observe the growth of the halos. Results: in the ethanol extract of "Tara". Alkaloids, flavonoids, phenolic compounds and tannins present in the extract were identified, being the concentrations of (75% and 100%) those that managed to have antimicrobial activity of which were compared with the control group (clarithromycin) which showed that the concentrations 100% extract showed an inhibitory effect in 98.45%. Conclusions: The treatment of *Staphylococcus aureus* ACTT 25923 with the ethanol extract *Caesalpinia spinosa* (tara) showed a lower efficacy. Compared to clarithromycin antibiotic which makes alternative treatment possible.

Keyword: *Caesalpinia spinosa* (Tara), *Staphylococcus aureus*, antibacterial effect, secondary metabolites.

I. INTRODUCCION

Existen gran variedad de plantas a nivel del mundo que presentan en su composición química metabolitos secundarios con actividad fármacoquímica y medicinales principalmente con propiedades antibacterianas que evitan el desarrollo y la resistencia bacteriana a distintos grupos farmacológicos, actuando por diferentes mecanismos de acción; además la OMS y el uso de las plantas en países en vía de desarrollo realizan estudios preclínicos y clínicos de las plantas medicinales y se está logrando revalorizar el uso de las plantas medicinales de nuestro medio brindando un aporte científico adecuado a lo tradicional ya que sus principios activos , se utilizan para una gran variedad de fármacos ya procesados, así como la tara que crece en forma rudimental en el departamento Ancash y otras regiones del Perú de por si tiene una amplia utilización empírica.(1) Nuestros ancestros lo utilizaban por sus propiedades curativas al tener actividades farmacológicas como: antiinflamatorio, colutorios para infecciones bronquiales, sinusitis, infecciones vaginales y micóticas heridas crónicas; también para lavar los ojos inflamados, diente cariado, elixir para dolor de estómago, diarreas, cólera, reumatismo y como depurativo del colesterol (2). También se puede aprovechar como tinte (sus raíces pueden teñir de color negro), curtiente (debido a su alto contenido de taninos), cosmético (evita la caída de cabello) y plaguicida (su cocción sirve contra piojos e insectos). (3)

Su fácil comercialización (siendo los mercados de mayor exportación EEUU, Suiza, España, Alemania e Italia siendo la tara un producto más rentable dentro de la agro-exportación debido a su gran acogida y altos precios mundiales) hacen posible el acceso de estas plantas a la población con bajos recursos económicos (4)

En nuestra población las enfermedades por vía respiratoria son muy recurrentes, las bacterias que llegan a causar estas enfermedades están llegando a ser resistentes ante los antibióticos por su mal uso de los mismos (5). en este trabajo se buscó demostrar su efecto antibacteriano del extracto etanólico *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre especies antibacterianas, para poder ofrecer una alternativa terapéutica para el tratamiento de estas infecciones para que pueda ser accesible a la población de bajos recursos.

Nuestra justificación de investigación, busca determinar el efecto antibacteriano, in vitro, del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en cepas *Staphylococcus aureus* al elaborar

el extracto de “Tara” para tratar afecciones causadas por *Staphylococcus aureus* ya que actualmente se ha encontrado problemas de resistencia a los medicamentos antimicrobianos, la cual se presenta con diversos microorganismos dentro de los cuales cabe destacar *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, en especial en el ámbito hospitalario y ambulatorio, mientras las infecciones por *Staphylococcus* no adquiridas en hospitales pueden tratarse con antibióticos derivados betalactámicos.

En nuestros antecedentes de estudio fueron nacionales e internacionales en el cual se va encontrar los efectos terapéuticos que nos han aportado las plantas con la finalidad de mejorar nuestra salud, como: **Alejandro N. (2020)**, su objetivo fue el “Efecto antibacteriano in vitro del jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *pasiflora ligularis* juss “granadilla” frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC25923”. Su objetivo determinar su efecto antibacteriano in vitro del jarabe con extracto hidroalcohólico de las hojas de *pasiflora ligularis* juss frente *Staphylococcus aureus* en su metodología la sensibilidad del *Staphylococcus aureus* frente al extracto con potencial antibacteriano fue evaluada con la técnica de agar de Kirby en concentraciones 25%, 50% y 75% con amoxicilina como control positivo y agua destilada como control negativo, la fórmula del jarabe se realizó basada en la consistencia del producto con la concentración efectiva inhibitoria del extracto, mostrándose como resultado donde se evidencio el efecto antibacteriano del jarabe con extracto de granadilla al 75% frente a *Staphylococcus aureus* (6)

También **María R. (2020)**, determinó el “Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “Tara” sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923” comparado con eritromicina” su metodología se realizó un diseño experimental con repeticiones múltiples mediante la observación del crecimiento de microorganismos en placa Petri. El extracto fue obtenido por maceración y filtración tuvo diluciones de 25 %, 50%, 75% y 100%. Se estableció la eritromicina como control positivo y alcohol como negativo su incubación fue a 37°C y sus lecturas cada 24 horas se dio como resultado que la eritromicina demostró ser más eficaz mientras que el extracto etanólico de *caesalpinia spinosa* Tara la eficacia fue menor (7)

Por otro lado **Álvarez C. (2021)**, Su “Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico de hojas y tallos de *Desmodium mollicum* (Kunth) DC (Manayupa) frente a *Escherichia coli* ATCC25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923” siendo su objetivo fue identificar los metabolitos presentes en las hojas en el extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos y

determinar a qué concentración se llegó a presentar la actividad del extracto en cepas como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* llevándose a cabo por método de maceración de 8 a 10 días para poder obtener así el extracto hidroalcoholico para poder realizar la marcha fitoquímica el método de difusión que se utilizo fue Kirby Bauer, los resultados obtenidos fueron que Manayupa presento actividad antibacteriana para *Escherichia coli* en las concentraciones de 75% y 50 % con halos de inhibición de 7.0 mm al contrario no se obtuvo ninguna actividad antibacteriana con *Staphylococcus aureus*. ATCC 25923 en ninguna concentración (8).

De tal manera, **Tenorio H. (2021)**, Su objetivo fue “Evaluar su actividad antibacteriana frente al *Staphylococcus aureus* y *Salmonella* entérica vs Enteritidis”. El Método utilizado fue arrastre por vapor, donde se identificó los metabolitos secundarios en diferentes ensayos cualitativos con el tamizaje fitoquímico y el método de Kirby Bauer identifico los halos demostrando su actividad antibacteriana en las concentraciones de 25%,50%, 75% y 100% dando como Resultado: la actividad antibacteriana sobre las cepas *Staphylococcus aureus* ATCC25923 al 100% porque contienen compuestos químicos como triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas y proteínas. (9)

También, **Jaimes G. (2020)**, estableció la “Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcoholico de *Musa cavendishii* Lam. (Plátano morado) frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615”. Se hizo un estudio experimental longitudinal de nivel explicativo la muestra vegetal fue recolectada en la provincia de Chanchamayo departamento de Junín se utilizó la técnica de Difusión de agar, distribuyéndose a concentraciones 10%, 25%, 50% y 75% .se realizó una incubación a temperatura de 35°C durante 24, 48 y 72 horas. dando como resultado que el extracto hidroalcoholico de *Musa cavendishii* lamb tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 observándose el halo de inhibición de 9.0 mm al 75% a las 24 horas se llegó a la conclusión que el extracto hidroalcoholico de *Musa cavendishii* Lamb. (Plátano morado) tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus* ATCC25923 al 75% y *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 al 50% (10).

Además, **Medina L. (2020)**, determino el “Efecto antibacteriano del extracto etanólico de vaina de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en cultivos de *Escheria coli* estudio in vitro, su objetivo es determinar su efecto antibacteriano del extracto etanólico de la vaina *Caesalpinia spinosa*

“Tara” en cultivos in vitro. Se llevó a cabo un proceso de tamizaje fitoquímico donde se encontró la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, antocianinas etc. Se realizó el método de difusión en disco el cual se utilizó el extracto etanólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* (tara) mostrando un efecto inhibitorio de los halos generada por el extracto a las concentraciones de 20 %, 40 % y 60% frente a cepas de *Escheria coli* comparado con ciprofloxacino como control positivo. Se llegó a una conclusión que el extracto etanólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* tara presenta un efecto antibacteriano a una concentración de 22%, se determinó la presencia de metabolitos bioactivos cuya acción antibacteriana se relaciona con los flavonoides alcaloides y compuestos fenólicos (11).

Por otro lado, **Calderón C. (2020)**, Identifico la “Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. La planta fue colectada en el distrito de Huasahuasi, la maceración fue elaborado con etanol al 70%, su actividad antibacteriana se determinó con el método de Kirby – Bauer con pozos de difusión sobre placa de Trypticase soya Agar se incubaron por 24 horas realizando un tamizaje fitoquímico al extracto mediante reacciones de coloración y precipitación, los resultados obtenidos se concluyeron que el extracto hidroalcoholico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) presentan actividad antibacteriana en cepas de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. (12)

También, **Torres C. (2018)**, estableció su “Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de *zingiber officinale* roscoe (kion) y cúrcuma longa l. (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*”. Su objetivo fue determinar la actividad in vitro del extracto etanólico de las raíces de *zingiber officinale* roscoe y cúrcuma frente a cepas de *Staphylococcus aureus* mediante método de macrodilucion (MC) La muestra es recolectada en la ciudad de Chanchamayo donde se identificó taxonómicamente en el museo de historia natural de la Universidad Mayor San Marcos según la clasificación de Cronquist (1988) (13)

También, **Carol F. (2019)**. Determino el “Efecto antimicrobiano in vitro de extractos de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*” siendo su Objetivo: Determinar el efecto antimicrobiano in vitro del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* sobre el crecimiento de *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y

Candida albicans, usando el método de difusión de discos. Siendo su Método: mediante la maceración, trabajó con concentraciones de 100%, 75%, 50% y 25%, con un control positivo (antimicrobiano), y un negativo (Etanol). Sus resultados: demostró que la actividad antimicrobiana del extracto es directamente proporcional a su concentración. El extracto etanólico de vainas presentó mayor diámetro de inhibición (19mm), mientras que el extracto de semillas presentó el más bajo (1mm), dando su conclusión: Los extractos de *C. spinosa* podrían ser utilizados como coadyuvantes en el tratamiento contra *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, que están relacionados con patologías orales (14)

Asimismo, **Lourdes, P. (2020)**, realizó la “Determinación de la actividad antibacteriana de microorganismos ácido lácticos aislados a partir chicha tradicional expendida en mercados de Quito contra bacterias de: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*” siendo su Objetivo: Determinar la actividad antibacteriana de microorganismos ácido lácticos aislados a partir chicha tradicional expendida en mercados de Quito contra bacterias de: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Siendo su técnica la Fermentación para fermentadoras de ácidos orgánicos. Además, se aislaron 2 cepas, mediante la técnica de estriado, identificando 2 colonias mediante observación microscópica y analizaron la actividad antimicrobiana frente a microorganismos indicadores de calidad *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. Sus conclusiones fueron: identificó 2 cepas de bacterias ácido lácticas procedentes de muestras de chicha tradicional, las cuales son responsables de producir ácido láctico, reducir el pH y originar compuestas inhibitorios de crecimiento (15)

De tal forma, **Ana R. (2016)**, su investigación fue “Revertir la resistencia antibacteriana de *Staphylococcus aureus*: el uso de fitoquímico como coadyuvantes antibióticos y agentes modificadores de la resistencia hacia terapias más efectivas” teniendo como Objetivo: encontrar fitoquímico que tengan una actividad adyuvante en la defensa antibacteriana o una actividad reguladora / auxiliar, que puedan ser utilizados como antibióticos comerciales para promover el tratamiento efectivo de *Staphylococcus aureus*, incluyendo cepas multirresistentes, como este es el caso de *S. aureus* resistente a meticilina (MRSA). El método de difusión en disco, optimizado y descrito en esta disertación, fue considerado el más fácil simple para detectar la potenciación de antibióticos promovida por extractos de plantas con la finalidad de detectar las actividades potenciadoras de los antibióticos y compararlas en términos de efectividad y simplicidad. Para ello, se combinaron 10 fitoquímico con cinco

antibióticos (ampicilina, oxacilina, ciprofloxacina, eritromicina y tetraciclina) para el tratamiento de *S. aureus*. Tres alcaloides (reserpina, quinina y pirrolidina) y dos flavonoides se destacaron de los demás fitoquímicos y redujeron la concentración mínima inhibitoria (CIM) de ciprofloxacina, eritromicina y tetraciclina. Llegando a la conclusión: el estudio permitió evaluar el potencial de 29 extractos de plantas de diferentes especies y 41 fitoquímicos comerciales, con el fin de promover un tratamiento más efectivo de las infecciones por *S. aureus* y MRSA. y disminuir la resistencia bacteriana a los antibióticos. (16)

Por otro lado, **Ricardo B. (2018)**, determino “Evaluación de la actividad de los extractos activos de *Petiveria alliacea* y *Caesalpinia spinosa*, con quimioterapéuticos de uso común en células primarias de pacientes con leucemia aguda” el trabajo tuvo como objetivo por una parte determinar la sobrevida de los pacientes con LA en el Hospital Universitario San Ignacio (HUSI) en Bogotá, y por otra parte determinar si la respuesta *ex vivo* a los quimioterapéuticos de elección se correlacionaba en parte con la respuesta de los pacientes a los protocolos de quimioterapia inducción un estudio de tipo retrospectivo, de 190 pacientes que ingresaron entre los años 2010 a 2016. Además, encontró que la actividad de los quimioterapéuticos con los extractos fue mejor que su actividad individual se apreció que los pacientes que responden de forma positiva a los quimioterapéuticos *ex vivo* tienen una mayor supervivencia (12,50 meses vs 7,23 meses), lo que podría permitir en el corto plazo establecer un sistema para predecir la respuesta al tratamiento en cada paciente y lograr una terapia más personalizada dependiendo del perfil individual. Por otra parte, la observación del aumento de la sensibilidad de los blastos a la terapia combinada entre los extractos y la quimioterapia abre las puertas a la realización de estudios clínicos en el mediano plazo en los que se contemple el uso de adyuvantes en la terapia antileucémica que potencien la acción de la quimioterapia, lo que permitiría un mejor control de la enfermedad. (17)

Finalmente, **Luis, P. (2017)**, Estableció “Curtición de pieles caprinas con la utilización de una combinación de diferentes niveles de *Caesalpinia spinosa* (tara) y ácido oxálico” siendo su objetivo: evaluar la curtición de pieles caprinas empleando una combinación de diferentes niveles de *Caesalpinia spinosa* (Tara) y ácido oxálico, utilizaron 24 pieles caprinas. Los resultados del análisis de las resistencias físicas del cuero caprino determinaron la mejor resistencia a la tensión la Tara en combinación con 1 % de ácido oxálico, produciendo un cuero muy resistente, que se moldea fácilmente para tomar la

forma del artículo que se quiere confeccionar y sobre todo que al ser sometido a fricción no se rompe. Siendo sus resultados: La curtición vegetal se considera una tecnología limpia ya que se prescinde del curtiente cromo y se obtienen resultados físicos y sensoriales en el cuero muy competitivos, utilizando un tanino proveniente de una planta que en nuestra provincia está en auge su explotación hasta el punto de formar cooperativas que se encargan de producirlo y que requieren de alternativas para su uso. (18)

A continuación, nuestras bases teóricas, para el conocimiento, el análisis y evaluación son las siguientes:

Caesalpinia spinosa conocida comúnmente como “Tara”, es un árbol que va alcanzar un tamaño de 2 a 5 metros de altura llegando a medir hasta 12 metros de altura, cilíndrico, ramas delgadas pobladas desde la base dando impresión de tener varios tallos la parte apical es irregular, con ramas terminales, con sección circular, de 4- 6 cm de diámetro aparasolada poco densas. Sus hojas son en forma de plumas pareadas, ovoides y brillantes ligeramente espinosas de color verde oscuro y miden 15 cm de largo, sus flores de color amarillo rojizo dispuestos en racimos de 8 cm a 15 cm de largo y aproximadamente 2 cm de ancho que contienen de 4 a 7 granos de semillas. Cada árbol de Tara puede rendir un promedio de 20 kg a 40 kg de vaina cosechándolos dos veces al año, su vida promedio es de cien años (19) se utilizaron los frutos (vainas y semillas) los colores naturales de la planta eran fijarlos en los tejidos de la lana y algodón logrando tintes de color negro hasta un color amarillo. Nuestro país es el mayor productor de tara en el mundo, con el 80% de la población mundial su producción es fundamentalmente de bosques naturales y en algunos lugares de terrenos agroforestales, se va encontrar en los valles interandinos secos entre 1000 y 3100 msnm, los departamentos de mayor producción son Cajamarca (41%) Ayacucho (16%) La Libertad (13%) Huánuco (13%) también se presenta en los departamentos de Huancavelica, Apurímac y Ancash, están abarcando diversas zonas áridas en Venezuela, Colombia, Ecuador, Bolivia hasta el norte de Chile (20).

Su clasificación taxonómica:

- División: Magnoliophyta
- Clase: Magnoliopsida
- Orden: Fabales
- Familia: Caesalpinaceae



- Género: Caesalpinia
- Especie: Caesalpinia spinosa
- Nombre vulgar: Tara

Figura N° 1: Caesalpinia Spinosa “Tara”
 Fuente: <https://ecograins.wordpress.com/fichas-técnicas/>

Las composiciones químicas de la vaina, semilla, goma, cascara y germen de la “Tara” se muestran en el siguiente cuadro N°1:

Descripción	Vainas	Semillas	Gomas	Germen	Cascara
Humedad	11.7	12.01	13.76	11.91	10.44
Proteínas	7.17	19.62	2.5	40.22	1.98
Azucares	-	-	83.2	-	-
Taninos	62	-	-	22.67	-
Extracto etéreo	2.01	5.20	0.48	12.91	0.97
Aceites	-	0.02	-	-	-

Cuadro N° 1: composición química de la “Tara”.

Fuente: <https://es.slideshare.net/lilianaarcegoomez/conociendocadenaproductivadetaraenayacuchomayo20081>

METODOS DE EXTRACCION

Destilación:

Es un método más usado empleado en las muestras vegetales donde se puede realizar de dos formas en agua o en corriente de vapor este método se usa generalmente para maderas aromáticas, hierbas y diversas flores, para la destilación en agua se colocará agua y plantas en una caldera se calienta el agua y la destilación a vapor las plantas se colocarán en una cuba sobre el vapor. Con estos dos procedimientos esperaremos que se volaticen los aceites.

Maceración:

Es un método utilizado para las flores muy delicadas se va aprovechar las características de estas plantas es la continuidad de seguir emitiendo sus aceites esenciales durante uno

o dos días después donde la muestra se encuentra seca y molida.

La extracción:

Se coloca las flores a temperatura ambiente, superponer el disolvente, se espera que empiece a evaporarse hasta obtener una pasta semisólida y se pasa por un alcohol sus costos de este método son muy elevados se usa frecuentemente para obtener el aceite de nardo (21).

Expresión:

También es conocida como técnica del prensado se utiliza para obtener aceites cítricos que se obtienen de las cáscaras y cortezas como por ejemplo la naranja, mandarina, pomelo, limón etc. (22)

El fundamento químico de marcha fitoquímica:

El tamizaje fitoquímico o screening fitoquímico nos va a permitir determinar los grupos químicos presentes de una planta donde se va orientar el método a utilizar, el tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación esto permitirá una evaluación con reacciones sensibles su distribución se da en dos fases de acuerdo a su afinidad fase móvil y otra solida (23)

Los beneficios de los metabolitos secundarios para nuestra salud, es mediante nuestra alimentación donde se debe aprovechar las propiedades biológicas entre estos tenemos:

Flavonoides:

Muchos de sus pigmentos van a proporcionar color a las flores y frutos juegan un papel fundamental en su reproducción.

Los flavonoides son compuestos fenólicos, donde serán sintetizados a partir de la fenilalanina y malonil-CoA. Todos los flavonoides van a compartir la misma vía biosintética, los flavonoides más conocidos son las antocianinas.

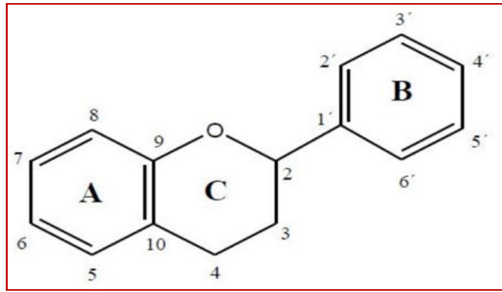


Figura N° 2: Estructura básica de un flavonoide
Fuente: Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.

- **Taninos:** se utilizan como repelentes alimenticios, algunos son beneficiosos para la salud como es el vino tinto para la salud cardiovascular.

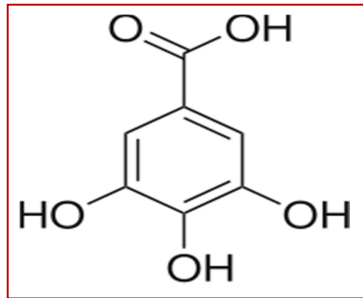


Figura N° 3: Estructura química de un tanino ácido gálico
Fuente: Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.

- **Terpenos:** Son derivados del compuesto IPP, formados por la ruta del ácido mevalónico sus moléculas son de naturaleza lipídica siendo insolubles en agua, muchos de los terpenos son comercialmente por su uso como aromas y fragancias en alimentación y cosmética.

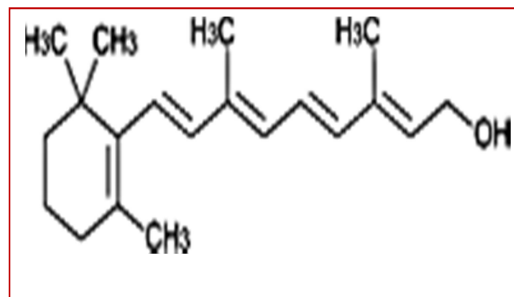


Figura N° 4: Estructura de terpeno (caroteno).
Fuente: Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.

- **Alcaloide:** son biosintetizados principalmente a partir de aminoácidos, son fisiológicamente activos en los animales aun en sus bajas concentraciones como es el caso de la medicina ejemplos conocidos son la cocaína, la morfina, atropina, la colchicina y en el caso de la cafeína y la quinina, la cafeína llega estimular nuestro sistema nervioso central y la quinina para el tratamiento de la malaria.

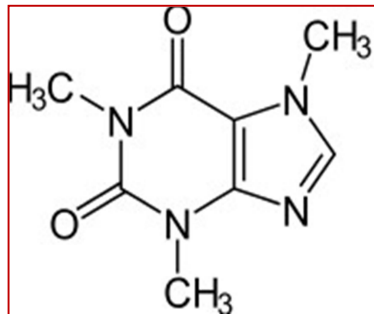


Figura N° 5: Formula de una cafeína un alcaloide estimulante
Fuente: Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.

- **Derivados del ácido fenólico:** su fórmula química es $C_6H_6O_1$ un ejemplo es el ácido salicílico que va actuar como regulador del crecimiento vegetal nosotros lo utilizaremos como antiinflamatorio y antipirético. **Glucosinolato** como es la sinigrina que se encuentra en la mostaza aportando aroma sabor y olor picante su función en el caso de la planta es ahuyentar a las orugas ^(15,16)

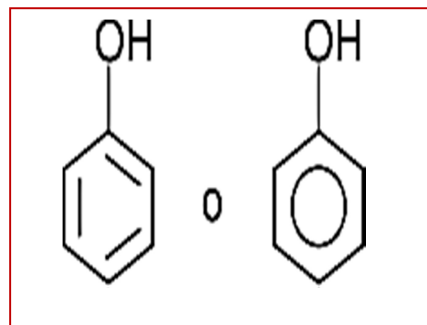


Figura N° 6: Dos formas diferentes de un fenol.
Fuente: Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.

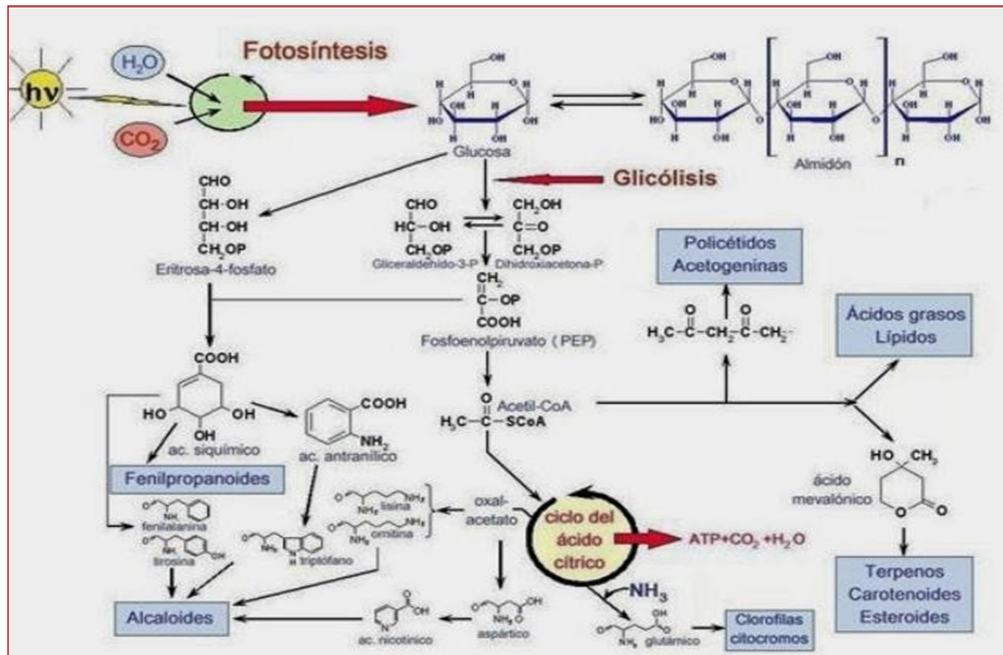


Figura N° 7: Origen de alcaloides, fenilpropanoides, terpenos algunos y los ejemplos de productos del metabolismo secundario.

Fuente: Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.

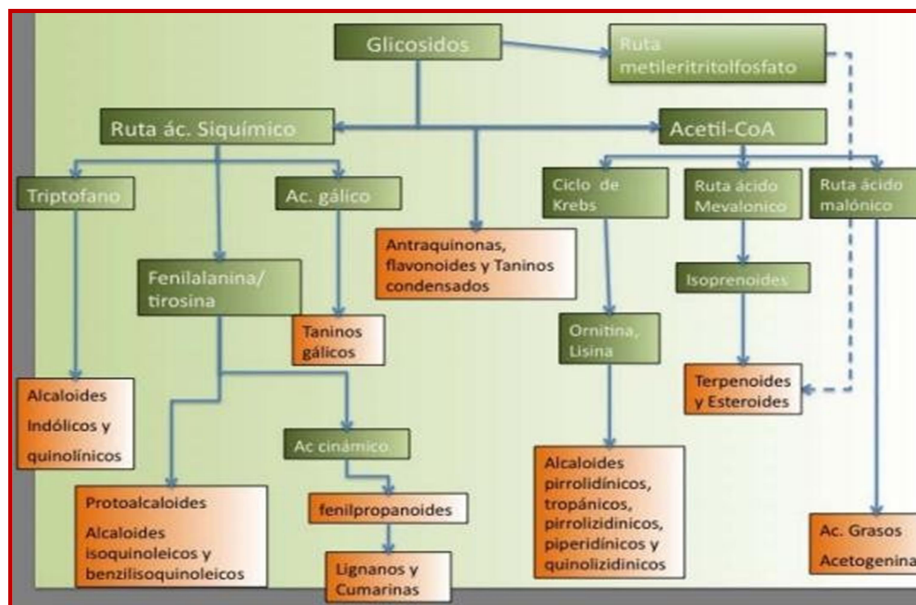


Figura N° 8: Metabolitos secundarios y sus rutas metabólicas.

Fuente: <https://www.ugr.es/~quored/pnatu/secundario.htm>

Los tipos de efectos antibacterianos:

- a) **Efecto bacteriostático**, donde va a inhibir el crecimiento de microorganismos, pero sus células bacterianas no mueren se encuentran las sulfamidas, macrolidos y tetraciclinas.
- b) **Efecto bactericida**, los agentes eliminan a las bacterias, pero no les ocasiona lisis, se encuentran los betalactámicos, aminoglucosidos y quinolonas, los antibacterianos van a actuar de la siguiente manera:

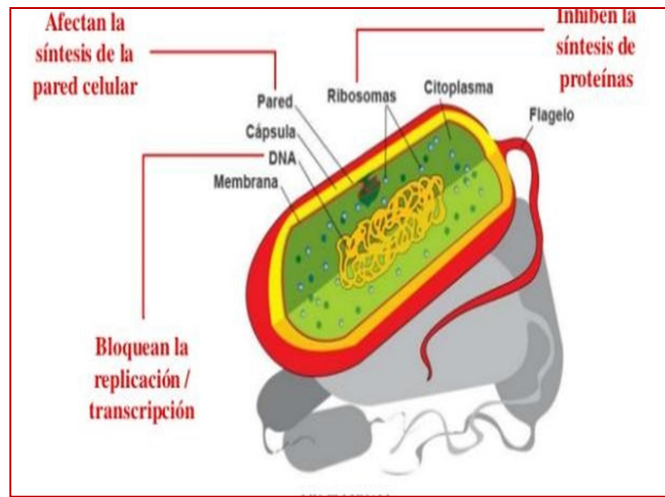


Figura N° 9: Modo de acción de los antibacterianos
Fuente: Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica
<https://www.elsevier.es/es>

Staphylococcus aureus, es una bacteria anaerobia gram+ que es capaz de producir coagulasa y catalasa es un patógeno con gran potencial para causar múltiples infecciones en el ser humano que van desde infecciones cutáneas, conjuntivitis, meningitis, sepsis, neumonía y en otros casos como riesgo vital como celulitis. La característica del *Staphylococcus aureus* es un coco que mide de 0.5 a 1 μm de diámetro formando grupos irregulares en forma de racimos de uvas, van aparecer solos, en pares, en racimos o cadenas cortas, sus racimos son irregulares en medios sólidos en otros cultivos frecuentemente se encuentran formando diplococos (17).

Su epidemiología del *Staphylococcus aureus*, siendo uno de los patógenos más importantes a nivel mundial, forma parte de la microflora humana, poco después del nacimiento los neonatos son colonizados por *S. aureus* los sitios de colonización incluyen el muñón del cordón umbilical, el área perineal, la piel y a veces el tracto gastrointestinal pudiendo contaminar la vestimenta y la ropa de cama, su colonización más frecuente es en pacientes con hemodiálisis

Tipo 1. Un aspecto importante para la salud pública son las infecciones de *S. aureus* que han reemergido debido a que la bacteria se ha tornado resistente a diversos antibióticos con los que normalmente se les trata durante varias décadas se han reportado un gran número de brotes epidémicos a nivel mundial sobre todo en hospitales , los brotes se dividen en infección nosocomiales en infecciones adquiridas por la comunidad entre el 20 y 50 % de la población mundial es portadora de *S. aureus* en fosas nasales y 30 % de formas permanentes. Además, El *Staphylococcus aureus* es resistente a meticilina es el germen responsable de una parte considerable de infecciones, tanto dentro como fuera de los hospitales teniendo como objetivo describir la resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina donde se realizó un estudio descriptivo (24) (25)

Clasificación científica de *Staphylococcus aureus*:

- Reino: Bacteria Phylum
- Clase: Bacilli
- Orden: Bacillales
- Familia: Staphylococcaceae
- Género: *Staphylococcus*
- Especie: *S. aureus*.

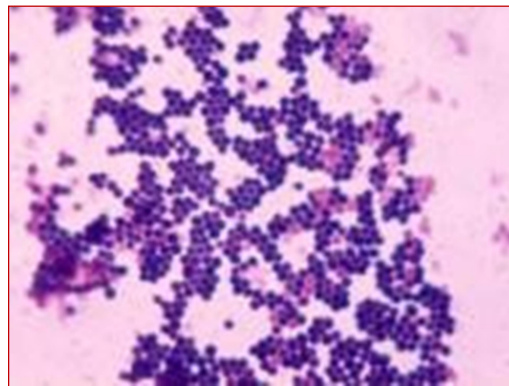


Figura N° 10: Imagen del *Staphylococcus aureus*
Fuente: Microbiología general de *Staphylococcus aureus* Medigraphic

Nuestra investigación tiene como objetivo general:

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

Los objetivos específicos de la investigación fueron:

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

El siguiente trabajo tiene como Hipótesis General;

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

A sí mismo como Hipótesis Especifico

Existen metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara); Existe una concentración del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) con efecto antibacteriano. En cepas de *Staphylococcus aureus* in vitro; El extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* (tara). En cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con claritromicina tiene efectividad positiva.

II. METODOLOGIA

2.1 Tipo y diseño de investigación

De acuerdo a las características y al alcance de los resultados, el estudio fue de tipo

- **Básico** : Nuestro diseño de investigación es básica porque dejamos una base o cimiento para otras tesis.

- **Experimental**: Son los que permiten la manipulación intencionada de una o más variables independientes para analizar las consecuencias que se generan en la variable dependiente.

- **Analítico**: Debido a que nos permitió analizar los diferentes componentes que se pueda presentar en el extracto y como estos influyen en la acción antibacteriana.

- **Transversal**: Debido a que el estudio se realizó en un determinado tiempo, ya que las variables fueron observadas en un solo momento después de transcurrir un corto periodo de tiempo realizado el cultivo.

- **In vitro**: Debido a que la investigación se llevó a cabo en medios de cultivo que sirven para el desarrollo de las bacterias y se manipularon de manera intencional las condiciones de la investigación.

Diseño del estudio: La investigación se realizó con un medio de cultivo una cepa biológicamente activa y con un extracto etanólico con actividad terapéutica. Se realizó un control de variable de acuerdo al protocolo de estudios, con la finalidad de identificar los posibles metabolitos secundarios.

El extracto etanólico de las vainas de *Caesalpinia spinosa* “Tara”. Se obtuvo por maceración, del polvo seco de la tara obtenido mediante el molido de las vainas

previamente lavado y secado se realizó la identificación de metabolitos secundarios, se utilizó el método de Olga Lock (26); se realizaron las pruebas de solubilidad, Tamizaje Fitoquímico, Cromatografía en capa fina y la prueba de Flavonoides Totales por uv-vis y Tanino la determinación de la actividad antibacteriana se realizó por el método de Kirby- Bauer cultivo in vitro se determinó con cepa de control de: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se analizó en discos de antibiogramas elaborados de papel watman estos fueron impregnados con las diferentes concentraciones elaborados de 12,5%; 25%, 50%; 75% y 100%. Se determinó el porcentaje de inhibición a través de la medición del halo de inhibición formado alrededor de los discos a las 24, 48 y 72 horas, se realizó la comparación de porcentaje de inhibición de las diferentes concentraciones comparando con la claritromicina

2.2 Operacionalización de variables

VARIABLE	CATEGORIA	DIMENSIONES	INDICADOR
VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto etanolico de <i>Caesalpinia spinosa</i>	Razón del 12.5%, 25%, 50% 75% y 100%	COMPONENTES ACTIVOS	Taninos, fenoles, Alcaloides, flavonoides cumarinas
VARIABLE DEPENDIENTE Efecto antibacteriano, in vitro	Cepa <i>Staphylococcus aureus</i>	Cuantitativa	Diámetro del halo de inhibición.

Cuadro N° 2: Operacionalización de variables
Fuente: Elaboración propia

2.3 Población, muestra y muestreo.

Población

La población bacteriana y su muestra de investigación de estudio, se realizó en cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* ATCC25923 correspondiente a 40 placas petri, lo cual estuvo conformado por el número de colonias que se empleó para la preparación de inóculo bacteriano, esta oscila entre 5 a 7 colonias de tamaño y morfología similar.

Muestra

La muestra vegetal de estudio está constituida por 4 kilos de vainas de *Caesalpinia spinosa* “Tara”.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica empleada de la recolección de datos en la investigación fue la “observación” esta se realizará registrando los datos obtenidos en cada proceso a través de fichas de observación que permite anotar de manera detallada todos los procedimientos que permitan llegar a los hallazgos. También se emplearán fotografías para probar los procesos ejecutados.

2.5 Procedimiento

2.5.1 Recolección y autenticación botánica

La muestra fue recolectada en la capital Huaraz ubicado en el departamento de Ancash, durante la recolección se guardaron las vainas en un cesto para evitar el exceso de sudoración de las vainas. Además, para su identificación taxonómica la muestra vegetal de *Caesalpinia spinosa* (Tara) fue certificada por el museo de historia de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos mediante la constancia N° 204-USM-2018 se adjunta certificado de taxonómica (anexo N°3).

2.5.2 Preparación del material vegetal.

Se empleó 4 kilos 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.

Una vez limpio se extendió en una fuente para secar a temperatura ambiente por 3 días luego se procedió a separar las semillas de las vainas, se seleccionó 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 etanólico

Se adicionó 2 litros de alcohol de 70° en un envase de vidrio color ámbar debidamente rotulado. Se dejó en maceración por 15 días con movimientos de constantes para lograr una buena homogenización del extracto. Al décimo día se agregó 500 ml más de alcohol 70° y se siguió agitando hasta completar los 15 días. Después de los 15 días 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 un extracto purificado libre de gérmenes.

2.5.4 Análisis Fitoquímico de *Caesalpinia spinosa* (tara).

1. Screening Fitoquímico.

Para las pruebas de tamizaje fitoquímico las pruebas son de precipitación y/o coloración, se vierte mililitros de la muestra de “Tara” en tubos de ensayo y luego se vierten gotas de cada reactivo para la identificación correspondiente de los metabolitos.

- **Identificación de Metabolitos Secundarios:**

- a. **Prueba para Alcaloides.**

Se utilizarán los reactivos de Mayer, Wagner, Dragendorff, Scheibler, Sonneschein y Reineckato para las muestras de “Tara”, cabe mencionar que se considera que la muestra en análisis tiene alcaloides cuando es positivo en por lo menos en tres reactivos de los ya citados.

- **Reactivo Mayer: (Yoduro de mercurio y potasio).**

En un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de muestra, luego se agregó III gotas de reactivo, (Se observará un precipitado de color blanco a crema).

- **Reactivo Wagner: (yodo-yoduro de potasio).**

En un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de muestra luego se agregó III gotas de reactivo, (se observará la formación precipitado de color marrón).

- Reactivo Dragendorff: (Yoduro de bismuto y potasio).

En un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de muestra, luego se agregó III gotas de reactivo, (se observará una coloración que va de naranja a rojo).

- Reactivo de Scheibler. (Ácido fosfortungstico).

En un tubo de ensayo se adicionó 2ml de muestra, luego se agregó III gotas de reactivo, (se observará una coloración blanca).

-Reactivo de Sonneschein. (Ácido fosfomolibdico).

En un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de muestra, luego se agregó III gotas de reactivo, (se observará la formación de anillo coloración naranja o rojo).

-Reactivo de Reineckato. (NH₄ [Cr (NH₃)₂(SCN)₄]2H₂O).

En un tubo de ensayo se adicionó 2 ml de muestra, luego se agregó III gotas de reactivo, (se observará una coloración rosa).

b. Prueba para Flavonoides y Compuestos Fenólicos.

Se tomará en cuenta la reacción de Bortranger (hidróxido de sodio al 5%), Shinoda, cloruro férrico y gelatina al 1%. su estructura contiene a las antraquinonas y naftoquinonas; la prueba de gelatina al 1% es para taninos sea condensado es un flavonoide llamado antocianidina y si es hidrolizables son formados por ácidos fenólicos.

-Reactivo de Shinoda (Limaduras de magnesio + HCl)

En un tubo de ensayo se adicionó 2ml muestra, luego se agregó limaduras de Mg metálico y 10 gotas de HCl al 1%. (Debería dar coloraciones amarillas a rojas (flavonas y flavonoles), si la coloración es rojo a magenta (flavanonoles), si son coloraciones rojo, violeta o azul (flavanonas), si son amarillos (isoflavonas), si esta no presenta coloración pueden ser isoflavononas, chalconas y auronas.

- Reactivo de Cloruro Férrico (disuelto en agua).

En un tubo de ensayo se adicionó 2ml muestra, luego se agregó II gotas de reactivo y se agitó lentamente. (Formación de pp verde: taninos condensados, pp azul: taninos hidrolizables).

c. Identificación de taninos:

- Reactivo de gelatina al 1%(Gelatina + cloruro de sodio).

En un tubo de ensayo se adicionó 2ml muestra, luego se agregó 3 a 5 gotas (debería formarse un pp. blanco).

- Reactivo de hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger).

En un tubo de ensayo se adicionó 2 ml muestra, luego se agregó 3 a 5 gotas para identificar la presencia de Antraquinonas y Naftoquinonas. (Debería dar una coloración roja)

d. Prueba para Cumarinas.

Las cumarinas están biogenéticamente relacionadas como flavonoides ya que su biosíntesis es por la vía shikimato. Para la identificación se hace la prueba de cumarinas volátiles; que consta de añadir 1 mL de etanol a la muestra en el tubo de ensayo y cerramos el tubo con papel filtro bien ajustado seguidamente embebemos con hidróxido de sodio al 10% y colocamos a baño maría, después el papel filtro es visto a luz uv 254, será positivo para cumarinas volátiles si presenta un azul brillante.

2. Prueba de Cromatografía en capa fina.

a. Cromatografía en capa fina – Alcaloides.

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides se usó una placa cromatografica de la marca Merck (TLC Silica gel F254) como fase estacionaria, para nuestro solvente de elución fue Metanol: Agua en proporción de (25:75) respectivamente, y se usó una jeringa en 1 µl. Para la comparación se usó un estándar de Cafeína en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 µl, caso similar con la muestra de “Tara”.

Una vez terminada la corrida se seca la placa hasta evaporar el solvente, caso seguido se evidencia las manchas de desplazamiento en la luz UV 254 nm. Para la identificación de alcaloides en la muestra se rosea ácido sulfúrico al 2 % y luego el reactivo de Dragendorff, como revelador, para una evidencia positiva se tiene que ver manchas naranjas.

b. Cromatografía en capa fina – Flavonoides

Para la prueba de cromatografía en capa fina para flavonoides se usó una placa cromatografía de la marca Merck (TLC Silica gel F₂₅₄) como fase estacionaria, para nuestro solvente de elución fue Butanol – Agua - Ácido acético glacial en proporción de (20:15:5) respectivamente, esta mezcla se puso en una pera de bromo de 250 mL y se agito, se evidencia la formación de dos fases, la fase móvil es la menos densa. También se usó una jeringa en µl. Para la comparación se usó un estándar de Quercetina en concentración de 10 mg/mL el cual se inyectó 5 µl a la placa cromatografía, caso similar con la muestra de “Tara”. Una vez terminada la corrida la muestra es secada en una plancha de calentamiento, hasta evaporación del solvente, se evidencia las manchas en la luz UV a 254 nm, y se usa como revelador el tricloruro de aluminio, para una muestra positiva es característico de manchas amarillas.

3. Prueba de espectrofotometría En El Uv-Vis.

a. Cuantificación de Flavonoides Totales

Para la realización de la prueba se usó el método de flavonoides totales que parte a partir de una concentración de 1 mg/mL de estándar Quercetina (solución madre) de esta solución se hace diluciones para tener concentraciones de 0.024, 0.1 y 0.2 mg/mL todo disuelto en etanol. Una vez obtenida las tres concentraciones a cada una se toma una alícuota de 2 mL y es depositada en tubos nessler de capacidad para 50 mL, acto seguido se le 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 suficiente para 20 mL de volumen final. Para la muestra de “Tara”, se toma una alícuota de 0.5 mL 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 suficiente para 20 mL de volumen final. Tanto los estándares como las muestras son incubados por 30 minutos para luego ser leídas el espectrofotómetro UV-VIS a 415 nm de longitud.



Figura N° 12: Materiales utilizados para la Prueba de espectrofotometría En El Uv-Vis.

Fuente: Elaboración propia



Figura N° 11: Espectrofotómetro Uv-Vis.

Fuente: Elaboración propia

b. Cuantificación de Taninos Totales

Este método se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin (tungstosfosfomolibdico; carbonato de sodio al 20%), el cual produce un complejo de color azul, cuya extinción es medida a 700 nm, determinando el contenido total de fenoles. Posteriormente se utiliza una solución de gelatina al 25% para garantizar el secuestro de los taninos, obteniéndose de la diferencia de ambas determinaciones el porcentaje de taninos reportados como ácido tánico.

La preparación de soluciones del estándar de referencia de ácido tánico se hizo pesando 25 mg y se transfirieron a una fiola de 100 mL y se completó el volumen con agua destilada. De esta solución se tomó una alícuota de 20 mL y se trasladó a una fiola de 100 mL y se aforo añadiendo agua destilada, por último, se tomó 4 mL de la solución y se vertieron en un matraz aforado de 25 mL y se completó con agua destilada.

Para la muestra se tomó 4 mL del extracto y se procedió como la preparación del estándar.

La determinación del contenido de Tainos en el extracto hidroalcoholico, se hizo utilizando la espectrofotometría ultravioleta- visible donde las muestras fueron leídas a 700 nm y su absorbancia referida a ácido tánico. Para la muestra se tomó 4 mL del extracto y se procedió como la preparación del estándar.



Figura N° 13: Materiales para la Cuantificación de Taninos Totales

Fuente: Elaboración propia

REACTIVOS USADOS	USO
Reactivo de Mayer	Identificación de Alcaloides en la muestra de Tara
Reactivo de Wagner	
Reactivo de Dragendorff	
Reactivo de Shinoda (Mg + HCl)	Identificación de Flavonoides
Reactivo de Cloruro Férrico	Identificación de Compuestos Fenólicos
Reactivo de Gelatina al 1%	Identificación de Taninos
Hidróxido de sodio al 5%	Identificación de Antraquinonas
Reactivo de Ninhidrina	Identificación de Aminoácidos
Reactivo de Etanol + NaOH al 10%	Identificación de Cumarinas Volátiles
Reactivo de Fehling A y B	Identificación de Glúcidos
Reactivo de Lugol	Identificación de Almidón
Reactivo 2,4 DNPH	Identificación de Cetonas
Alcohol de 96°	Prueba de solubilidad.
Metanol	
Etanol	
Cloroformo	
Agua destilada	
Reactivo de AlCl ₃ al 2%	Revelador de Flavonoides
Acetato de sodio 1M	Cuantificación de Flavonoides Totales
Reactivo Metanol: Agua (25:75)	Fase móvil para la CCF de Alcaloides
Reactivo de BAW (4:3:1)	Fase móvil para la CCF de Flavonoides
Estándar de Quercetina	Para la prueba de Flavonoides
Estándar de Cafeína	Para la prueba de Alcaloides
Estándar de Ácido Tánico	Para la prueba de Taninos

Cuadro 3: Reactivos utilizados en nuestro trabajo.

Fuente: Elaboración propia

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 antibiótico y la muestra del extracto de *Caesalpinia spinosa*.

Cepa control.

Se trabajó con la cepa control, *Staphylococcus Aureus* ATCC 25923.

Medio de cultivo.

Agar manitol salado.

a. Preparación de las placas con cultivo de *Staphylococcus Aureus* (Guía de microbiología.

- Preparación de Agar Manitol salado.

Se utilizó el medio de cultivo Agar Manitol salado para crecimiento de *Staphylococcus Aureus*. Se preparó el medio de cultivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se pesó 111.02 gramos del agar y se disolvió en 1000 ml de agua destilada en un matraz estéril. Se tapó bien el matraz con tapón de algodón y se cubre con papel de aluminio y se llevó a esterilizar en autoclave a una temperatura de 121° C por 15 minutos. Luego se dejó enfriar hasta que la temperatura fue de 48-50°C. Se distribuyó el medio en las placas de Petri hasta un nivel aproximado de 4 mm. Esto corresponde a 25 - 30 ml de medio en placas Petri de 15 x 100 ml de diámetro interno. Se dejó solidificar el medio de cultivo durante 30 minutos

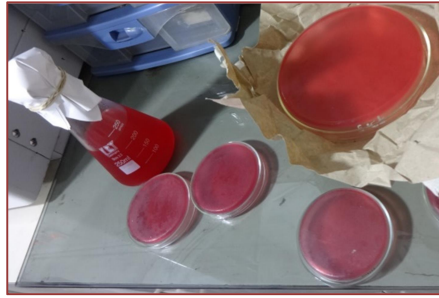


Figura N° 14. Preparación de Agar Manitol salado
Fuente: Elaboración propia

b. Cultivo de la cepa de Staphylococcus Aureus para su crecimiento.

Para su crecimiento artificial deben de reunir una serie de condiciones como son: temperatura, grado de humedad y presión de oxígeno adecuado, así como un grado correcto de acidez o alcalinidad. El medio de cultivo debe contener los nutrientes y factores de crecimiento necesarios y debe estar exento de todo microorganismo contaminante. Se siembra la cepa original con la ayuda de un hisopo estéril en el agar Mueller -Hinton, se tapa bien la placa asegurando bien los bordes se incuba a 37°C. Por 24 horas para observar su desarrollo.



Figura N° 15: Inoculación de la cepa Staphylococcus aureus
Fuente: Elaboración propia,



Figura N° 16: Crecimiento de cepa de *Staphylococcus aureus* en el medio de cultivo agar Mueller –Hinton
Fuente: Elaboración propia

c. Preparación de agar Mueller-Hinton.

Es un medio no selectivo y no diferencial, es un agar suelto, lo que permite una mejor difusión de los antibióticos se preparó el medio de cultivo de acuerdo con las instrucciones del fabricante. se pesó 38 gramos del agar y se disolvió en 1000 ml de agua destilada se tapó bien el matraz con un tapón de algodón y se cubre con papel de aluminio y se llevó a esterilizar por 15 minutos se dejó enfriar se distribuyó el medio en 40 placas de Petri que íbamos a utilizar hasta un nivel aproximado de 4 mm. Se dejó solidificar el medio de cultivo durante 30 minutos.

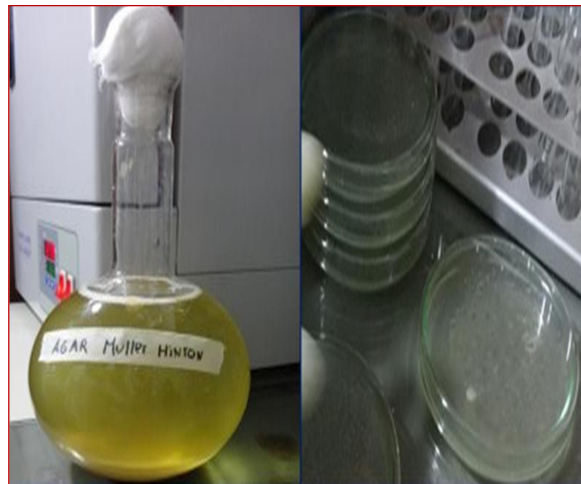


Figura N° 17: Agar Mueller-Hinton.
Fuente: Elaboración propia

d. 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.

Concentración al 12.5% = 12.5 ml de extracto etanólico y 87.5 ml de agua destilada.

Concentración al 25% = 25ml de extracto etanólico y 75 ml de agua destilada.

Concentración al 50% = 50 ml de extracto etanólico y 50 ml de agua destilada.

Concentración al 75% = 75 ml de extracto etanólico y 25 ml de agua destilada.

Concentración al 100% = 100 ml de extracto etanólico.

Estas concentraciones fueron guardadas en frascos.



Figura N° 18: Concentraciones de *Staphylococcus aureus*.

Fuente: Elaboración propia.

e. Incubación.

Después de 15 minutos de aplicar los discos, las placas se envuelven con papel kraft. Siempre manteniendo la esterilidad de la zona 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.



Figura N° 19: Incubación de las placas sembrada con *Staphylococcus Aureus* con los discos de extractos etanolico de “tara”

Fuente: Elaboración propia.

2.6 Método de análisis de datos.

Los datos obtenidos del trabajo fueron procesados en las fichas de recolección, luego fueron enumerarlas para ser ingresadas a la base de datos en Microsoft Excel, para el análisis de la información se utilizó el método de análisis de varianza (ANOVA.)

La información obtenida se ordenó y sistematizo adecuadamente conforme a criterio y parámetros convenientemente para el estudio. La presentación se realizó a través de la prueba de independencia inferencial para reconocer la relación de las variables y cuadros estadísticos que nos permitirá consolidar el aspecto objetivo del análisis del objeto de estudio.

Para el crecimiento de cálculo de inhibición en % se utilizó la siguiente formula establecido según (PEIR)

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Diámetro de la muestra} \times 100}{\text{Diámetro del control}}$$

2.7 Aspectos éticos.

En el presente trabajo de investigación se manipularon medios de cultivo y bacteria *Staphylococcus aureus* donde se cumplieron normas éticas de bioseguridad y también de buenas prácticas de laboratorio donde se realizó el experimento. Los procedimientos se realizaron sin que exista ningún adulteramiento para la credibilidad y autenticidad de nuestra de investigación

III. RESULTADOS

3.1 Resultados de identificación de metabolitos secundarios:

Resultados para el tamizaje Fitoquímico			
IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS			
Tubo N°	Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Resultado para el extracto etanolico <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)
1	Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco (+)
2		Wagner	Precipitado marrón (+)
3		Dragendorff	Precipitado rojo o naranja (++)
4		Scheibler	Precipitado o Color blanco (-)
5		Sonneschein	Precipitado naranja (++)
6		Reineckato	Color rosa (++)
7	Compuestos fenólicos (taninos) y Flavonoides	Shinoda	Color rojo (+++)
8		Cloruro férrico	Color negro (+++)
9		Gelatina al 1%	Precipitado blanco (+++)
10		Reacción de Bortranger	Color rojo (-)
11	Aminoácidos	Ninhidrina	Color rosado (-)
12	Cumarinas	Hidróxido de sodio al 10%	Azul brillante al UV 254 (-)

Cuadro N° 4: Resultados de identificación de metabolitos secundarios.

Fuente: Elaboración propia

En el resultado del tamizaje fitoquímico realizado al extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) se determinó la existencia de diferentes grupos de metabolitos secundarios de interés microbiológico tal como lo demuestra en el cuadro N° 4. 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.

3.1.1 Identificación para Alcaloides.

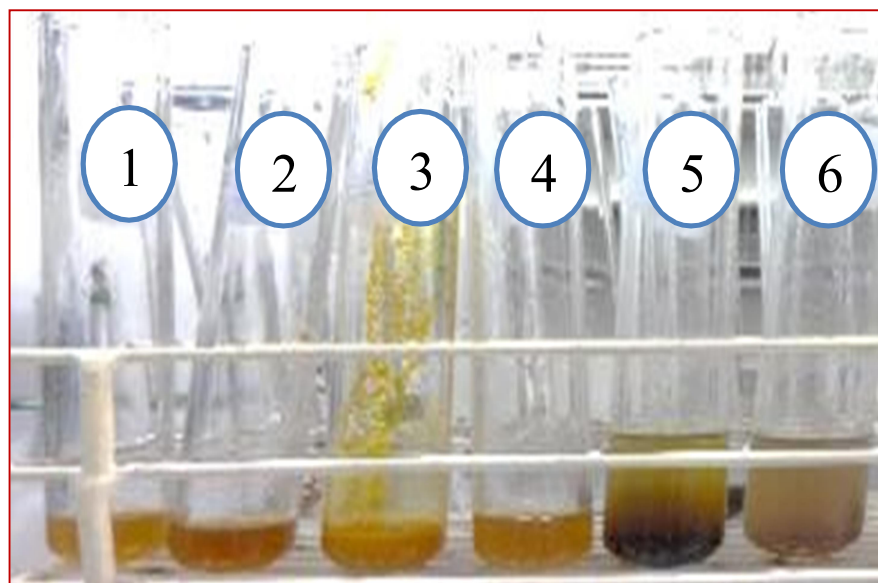


Figura N° 20: Identificación de alcaloides
Fuente: Elaboración Propia.

Tubo N°	Reactivo de identificación	Resultado para el extracto etanolico Caesalpinia spinosa (Tara)
1	Mayer	Precipitado blanco (+)
2	Wagner	Precipitado marrón (+)
3	Dragendorff	Precipitado rojo o naranja (++)
4	Scheibler	Precipitado o Color blanco (-)
5	Sonneschein	Precipitado naranja (++)
6	Reineckato	Color rosa (++)

Cuadro N° 5: Identificación de alcaloides
Fuente: Elaboración Propia

En el tamizaje fitoquímico realizado al extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) se determinó la existencia de alcaloides, lo cual se puede observar los valores encontrados en la investigación en el **Cuadro N°5**. Siendo los tubos (1 y 2) (+); La coloración o precipitado se evidencia poco y para los tubos (3, 5 y 6); La coloración o precipitado se evidencia moderadamente (++) y para el tubo N°4 La coloración o precipitado no se evidencia (-)

3.1.2 Identificación para compuestos Fenólicos y Flavonoides.



Figura N° 21: Identificación de compuestos Fenólicos y Flavonoides
Fuente: Elaboración Propia

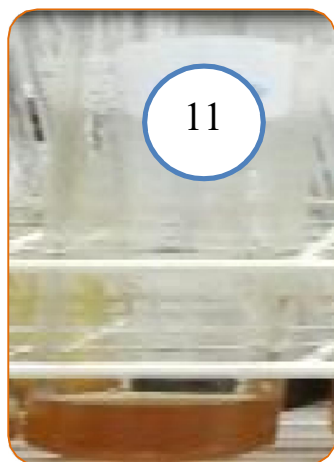
Tubo N°	Reactivo de identificación	Resultado para el extracto etanolico <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)
7	Shinoda	Color rojo (+++)
8	Cloruro férrico	Color negro (+++)
9	Gelatina al 1%	Precipitado blanco (+++)
10	Reacción de Bortranger	Color rojo (-)

Cuadro N° 6: Identificación de compuestos Fenólicos y Flavonoides
Fuente: Elaboración Propia

En el tamizaje fitoquímico realizado al extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) se determinó la existencia de compuestos Fenólicos y Flavonoides, lo cual se puede observar los valores encontrados de la investigación en el **Cuadro N°6**. Siendo los tubos (1, 2 y 3) La coloración o precipitado se evidencia notablemente dando (+++) y para el tubo N°4 La coloración o precipitado no se evidencia (-)

3.1.3 Resultados Para aminoácidos

Tubo N°	Reactivo de identificación	Resultado para el extracto etanolico Caesalpinia spinosa (Tara)
11	Ninhidrina	Color rosado (-)



En el tamizaje fitoquímico realizado al extracto etanolico de Caesalpinia spinosa (Tara) se determinó la existencia de aminoácidos lo cual se puede observar los valores encontrados de la investigación en el **Cuadro N°6**. Observamos una coloración marrón lo que no indica negativo. La coloración o precipitado no se evidencia (-)

4.1.3 Resultados para Cumarinas

Tubo N°	Reactivo de identificación	Resultado para el extracto etanolico Caesalpinia spinosa (Tara)
12	Hidróxido de sodio al 10%	Azul brillante al UV 254 (-)



En el tamizaje fitoquímico realizado del **Cuadro N°8**: del extracto etanolico de Caesalpinia spinosa (Tara) se determinó la existencia de cumarinas lo cual no se visualizó el color característico, lo que nos indica negativo siendo la coloración o precipitado no se evidencia (-)

3.2 Resultados de cromatografía en capa fina.

A.- Cromatografía en capa fina Alcaloides.

Se evidencian las manchas de desplazamiento 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 color naranja lo que indica resultado positivo para alcaloides. Esto indica presencia de alcaloides de la muestra en análisis "Tara".



Figura N° 22: Identificación de Alcaloides por cromatografía de capa fina

Fuente: Elaboración Propia

B.- Cromatografía en capa fina Flavonoides

Una vez terminada la corrida la muestra es secada en una plancha de calentamiento, hasta evaporación del solvente, se evidencia las manchas en la luz UV a 254 nm, y se usa como revelador el tricloruro de aluminio,

Resultado. Se observó el color característico de manchas de color amarillo lo que indica resultado positivo para flavonoides. Esto indica presencia de flavonoides de la muestra en análisis "Tara".

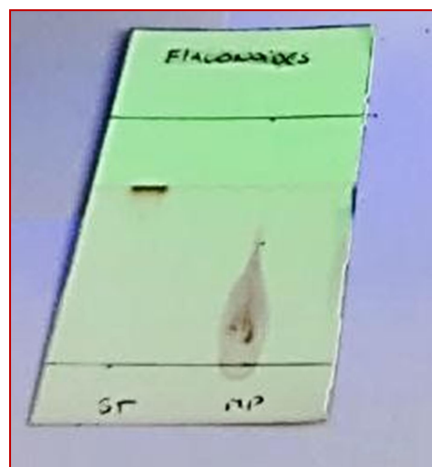

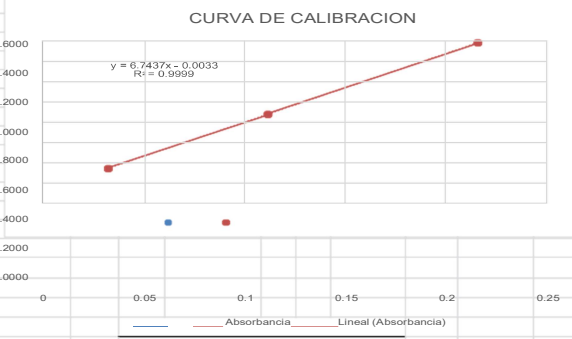


Figura N° 23: Identificación de Alcaloides por cromatografía de capa fina

Fuente: Elaboración propia

3.3 Resultados de espectrofotometría en el UV-VIS para flavonoides

En la **figura N° 24**: emitido por el área de análisis físico químicos de la Universidad Cayetano Heredia, se pudo determinar la presencia de Flavonoides en el Extracto etanólico de *Caesalpinia Spinosa* “Tara”.

		SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD		Código y Versión: FQ-FR-035.00																																									
		ÁREA DE ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS		Fecha de Emisión: 2016-01-11																																									
		REPORTE DE CONTENIDO POR ESPECTROFOTOMETRÍA Uv- Vis		Página 1 de 1																																									
DATOS DEL PRODUCTO:																																													
Nombre:	TARA Extracto de Tara		Fabricante:	S/F																																									
Presentación:			Fecha de Vencimiento:	Técnica Interna SCC-UPCH																																									
Lote:			Norma Técnica:	2018-03-06																																									
Código SCC-UPCH:																																													
SISTEMA ESPECTROFOTOMETRICO:																																													
Equipo:	ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS		Código:	EQ-FQ-32																																									
Longitud de onda:	415 nm																																												
DATOS DEL ESTÁNDAR:																																													
Nombre:	QUERCITIN A	Primario:	✓	Secundario:	---																																								
LOTE:	A104792-812	Fecha de Vencimiento:	-----																																										
Potencia:	100.0	% T/C	Código:	---																																									
Peso molecular en forma de Sal:	-		Humedad:	---																																									
Peso molecular en forma de Base:			Volumen enrase:	50 mL																																									
Peso:	50.1	mg																																											
Diluciones de la curva:																																													
24 ug/mL	Vol. dilución 1:	1.2 mL	100 ug/mL	Vol. dilución 1:	5 mL																																								
	Vol. enrase 1:	50 mL		Vol. enrase 1:	50 mL																																								
			200 ug/mL	Vol. dilución 1:	10 mL																																								
				Vol. enrase 1:	50 mL																																								
		<table border="1"> <thead> <tr> <th>mg/mL</th> <th>Factor de corrección</th> <th>(mg/mL) Corregido</th> <th>Absorbancia</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0.02405</td><td>1</td><td>0.02405</td><td>0.15321</td></tr> <tr><td>0.02405</td><td>1</td><td>0.02405</td><td>0.16074</td></tr> <tr><td>0.02405</td><td>1</td><td>0.02405</td><td>0.16300</td></tr> <tr><td>0.10020</td><td>1</td><td>0.10020</td><td>0.66631</td></tr> <tr><td>0.10020</td><td>1</td><td>0.10020</td><td>0.67300</td></tr> <tr><td>0.10020</td><td>1</td><td>0.10020</td><td>0.67749</td></tr> <tr><td>0.20040</td><td>1</td><td>0.20040</td><td>1.34230</td></tr> <tr><td>0.20040</td><td>1</td><td>0.20040</td><td>1.34880</td></tr> <tr><td>0.20040</td><td>1</td><td>0.20040</td><td>1.35360</td></tr> </tbody> </table>		mg/mL	Factor de corrección	(mg/mL) Corregido	Absorbancia	0.02405	1	0.02405	0.15321	0.02405	1	0.02405	0.16074	0.02405	1	0.02405	0.16300	0.10020	1	0.10020	0.66631	0.10020	1	0.10020	0.67300	0.10020	1	0.10020	0.67749	0.20040	1	0.20040	1.34230	0.20040	1	0.20040	1.34880	0.20040	1	0.20040	1.35360		
mg/mL	Factor de corrección	(mg/mL) Corregido	Absorbancia																																										
0.02405	1	0.02405	0.15321																																										
0.02405	1	0.02405	0.16074																																										
0.02405	1	0.02405	0.16300																																										
0.10020	1	0.10020	0.66631																																										
0.10020	1	0.10020	0.67300																																										
0.10020	1	0.10020	0.67749																																										
0.20040	1	0.20040	1.34230																																										
0.20040	1	0.20040	1.34880																																										
0.20040	1	0.20040	1.35360																																										
		$y = bx \pm a$		ECUACIÓN DE LA RECTA: $Y = 7.744 x - 0.003$																																									
				a: -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 A1	0.96123	A	0.96772																																								
					0.95450																																								
MUESTRA		mg/mL		RSD																																									
A		14.2049	14.1051	14.3011	0.6901																																								
MUESTRA				PROMEDI																																									
A				14.20																																									

RESULTADOS:

14.20 mg de Quercetina/ mL de extracto


ESPECIFICACIONES/

Los Flavonoides Totales se expresan en mg equivalentes de Quercetina /mL de extracto

OBSERVACIONES CONCLUSIÓN:

resultados de espectrofotometría en el UV-VIS para Taninos totales

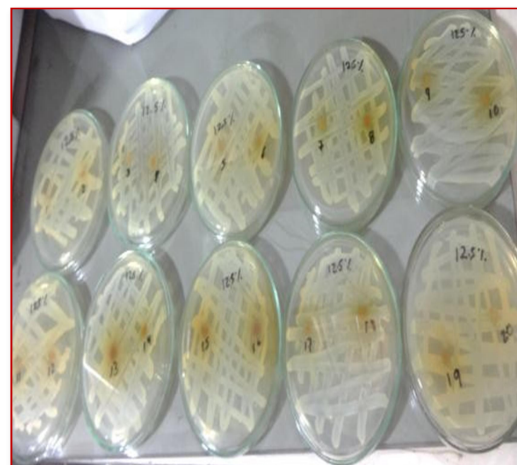
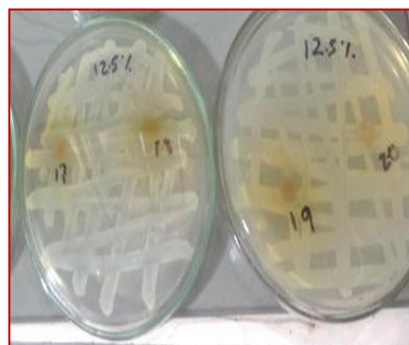
En la **figura N° 25**: emitido por el área de análisis físico químicos de la Universidad Cayetano Heredia, se pudo determinar la presencia de Taninos en el Extracto etanolico de Caeselpina Spinosa "Tara".

		SERVICIO DE CONTROL DE CALIDAD		Código y Versión: FQ-FR-035.00											
		ÁREA DE ANÁLISIS FÍSICOS Y QUÍMICOS		Fecha de Emisión: 2016-01-11											
		REPORTE DE CONTENIDO POR ESPECTROFOTOMETRÍA Uv-Vis		Página 1 de 1											
DATOS DEL PRODUCTO:															
Nombre:	TARA	Fabricante:	-----												
Presentación:	EXTRACTO DE TARA	Fecha de Vencimiento:	S/F												
Lote:	TARA	Norma Técnica:	Técnica Interna SCC-UPCH												
Código SCC-UPCH:	-----	Fecha de análisis:	2018-02-20												
SISTEMA ESPECTROFOTOMETRICO:															
Equipo:	ESPECTROFOTOMETRO UV-VIS		Código:	EQ-FQ-32											
Longitud de onda:	700 nm														
DATOS DEL ESTÁNDAR:															
Nombre:	ACIDO TANICO	Primario:	---	Secundario:	---										
		Working Std:	√												
	LOTE: K24140673 727	Fecha de Vencimiento:	Vigente a la fecha												
Potencia:	100.0	% T/C													
Peso molecular en forma de Sal:	-	Código:	---												
Peso molecular en forma de Base:	-	Humedad:	---												
Peso:	25.3	mg	Volumen enrase:	100	mL										
Volumen de dilución 2:	20	mL	Volumen de enrase 2:	100	mL										
Volumen de dilución 3:	4	mL	Volumen de enrase 3:	25	mL										
<table border="1"> <thead> <tr> <th>MUESTR A</th> <th>ABSORBANCIA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1</td> <td>0.0021706</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>0.0022211</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>0.0020552</td> </tr> <tr> <td>Promedio</td> <td>0.00215</td> </tr> </tbody> </table>						MUESTR A	ABSORBANCIA	1	0.0021706	2	0.0022211	3	0.0020552	Promedio	0.00215
MUESTR A	ABSORBANCIA														
1	0.0021706														
2	0.0022211														
3	0.0020552														
Promedio	0.00215														
DATOS DE LA MUESTRA															
	TARA														
Peso o volumen de muestra 1	4	mL	Volumen de enrase 1:	250	(ml)										
			Volumen de dilución 2:	3	(ml)										
			Volumen de enrase 2:	50	(ml)										
			Volumen de dilución 3:	1	(ml)										
			Volumen de enrase 3:	25	(ml)										
CÁLCULOS:															
<table border="1"> <thead> <tr> <th>MUESTR A</th> <th>ABSORBANCIA</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Tara</td> <td>0.00236</td> </tr> <tr> <td>Tara</td> <td>0.00237</td> </tr> </tbody> </table>						MUESTR A	ABSORBANCIA	Tara	0.00236	Tara	0.00237				
MUESTR A	ABSORBANCIA														
Tara	0.00236														
Tara	0.00237														
<table border="1"> <thead> <tr> <th>MUESTR A</th> <th>mg/mL</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Tara</td> <td>231.3414</td> </tr> <tr> <td>Tara</td> <td>232.7444</td> </tr> <tr> <td>PROMEDI O</td> <td>232.0429</td> </tr> </tbody> </table>						MUESTR A	mg/mL	Tara	231.3414	Tara	232.7444	PROMEDI O	232.0429		
MUESTR A	mg/mL														
Tara	231.3414														
Tara	232.7444														
PROMEDI O	232.0429														
RESULTADOS:															
232.04 mg de Ácido Tánico/mL de muestra															
ESPECIFICACIONES/ OBSERVACIONES CONCLUSIÓN:															
Los Taninos Totales se expresan en mg equivalentes de Ácido TánicoGalico /mL de muestra															

3.4 Resultados de concentraciones al 12.5 % de Caesalpinia spinosa "Tara" a las 72 horas en cepas de Staphylococcus aureus atcc25923.

Extracto etanolico de Caesalpinia spinosa "Tara"		
Medida de los halos de Inhibición en (mm) a las 72 horas		
N° Placas	Claritromicina	Concentración al 12.5 %
1	18	4
2	18	4
3	18	4
4	18	4
5	18	0
6	18	0
7	18	0
8	18	0
9	18	4
10	18	4
11	18	0
12	18	4
13	18	4
14	18	4
15	18	4
16	18	0
17	18	4
18	16	4
19	18	4
20	18	4
21	18	4
22	18	0
23	18	4
24	18	4
25	18	0
26	18	0
27	16	0
28	18	4
29	18	0
30	20	4
31	18	0
32	18	4
33	18	4
34	18	0
35	18	4
36	18	4
37	18	0
38	18	4
39	16	0
40	18	4
Promedio	17.9	2.5

Según la lectura de las medidas de inhibición de los discos del extracto etanolico al **12.5%**, se pudo determinar que si presenta un efecto inhibitorio, lo cual podemos describirlo según el porcentaje de inhibición que es el **2.5%** del halo inhibitorio según lo detalla en el **cuadro N°7** siendo el control positivo la claritromicina lo cual tiene un porcentaje de inhibición al **17.9%**



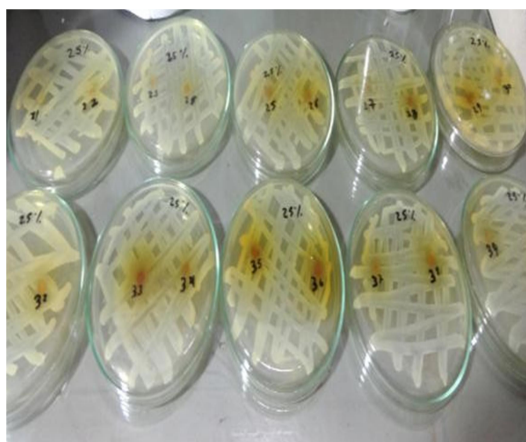
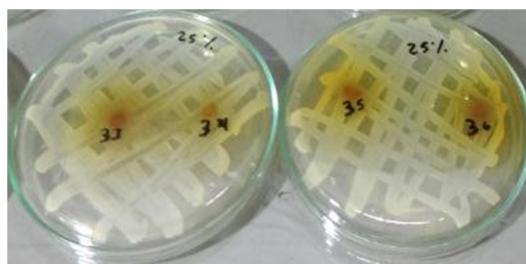
Cuadro N° 7: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 12.5% en cepas de Staphylococcus aureus atcc25923

Fuente: Elaboración propia

3.5 Resultados de concentraciones al 25 % de *Caesalpinia spinosa* "Tara" a las 72 horas en cepas de *Staphylococcus aureus* atcc25923

Extracto etanolico de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara"		
Medida de los halos de Inhibición en (mm) a las 72 horas		
N° Placas	Claritromicina	Concentración al 25 %
1	18	10
2	18	10
3	18	10
4	18	10
5	18	10
6	18	10
7	18	10
8	18	8
9	18	10
10	18	10
11	18	10
12	18	8
13	18	10
14	18	10
15	18	10
16	18	10
17	18	10
18	16	10
19	18	10
20	18	8
21	18	10
22	18	10
23	18	10
24	18	8
25	18	10
26	18	10
27	16	10
28	18	10
29	18	8
30	20	10
31	18	10
32	18	10
33	18	10
34	18	8
35	18	10
36	18	10
37	18	8
38	18	10
39	16	10
40	18	10
Promedio	17.9	9.65

Según la lectura de las medidas de inhibición de los discos del extracto etanolico al **25%**, se pudo determinar que si presenta un efecto inhibitorio, lo cual podemos describirlo según el porcentaje de inhibición que es el **9.65%** del halo inhibitorio según lo detalla en el **cuadro N°8** siendo el control positivo la claritromicina lo cual tiene un porcentaje de inhibición al **17.9%**



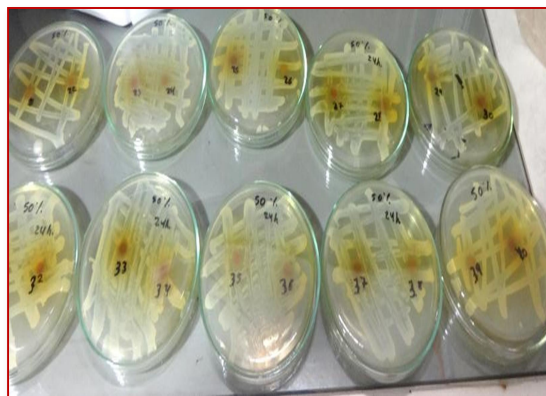
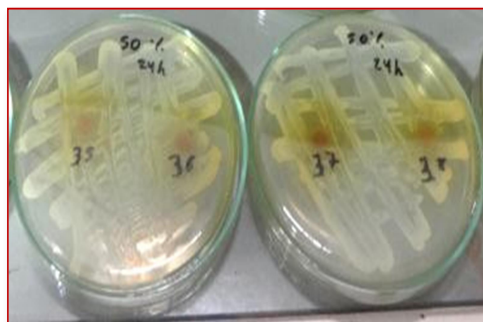
Cuadro N° 8: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 25% en cepas de *Staphylococcus aureus* atcc25923

Fuente: Elaboración propia

3.6 Resultados de concentraciones al 50 % de *Caesalpinia spinosa* "Tara" a las 72 horas en cepas de *Staphylococcus aureus* atcc25923.

Extracto etanolico de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara"		
Medida de los halos de Inhibición en (mm) a las 72 horas		
N° Placas	Claritromicina	Concentración al 50 %
1	18	16
2	18	14
3	18	16
4	18	16
5	18	16
6	18	16
7	18	16
8	18	16
9	18	16
10	18	16
11	18	16
12	18	14
13	18	16
14	18	14
15	18	16
16	18	16
17	18	16
18	16	14
19	18	16
20	18	16
21	18	16
22	18	14
23	18	14
24	18	16
25	18	16
26	18	16
27	16	16
28	18	16
29	18	16
30	20	16
31	18	16
32	18	16
33	18	16
34	18	16
35	18	16
36	18	16
37	18	16
38	18	16
39	16	16
40	18	16
Promedio	17.9	15.7

Según la lectura de las medidas de inhibición de los discos del extracto etanolico al 50%, se pudo determinar que si presenta un efecto inhibitorio, lo cual podemos describirlo según el porcentaje de inhibición que es el 15.7% del halo inhibitorio según lo detalla en el cuadro N°9 siendo el control positivo la claritromicina lo cual tiene un porcentaje de inhibición al 17.9%



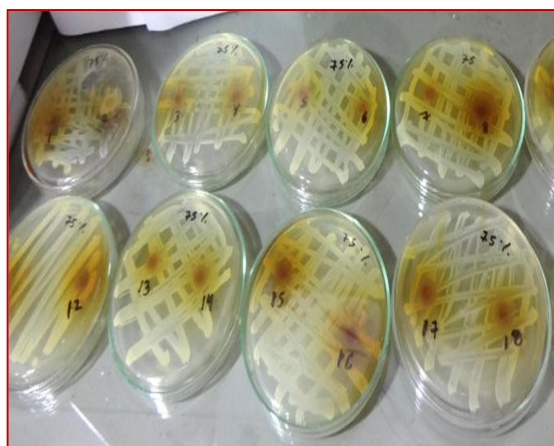
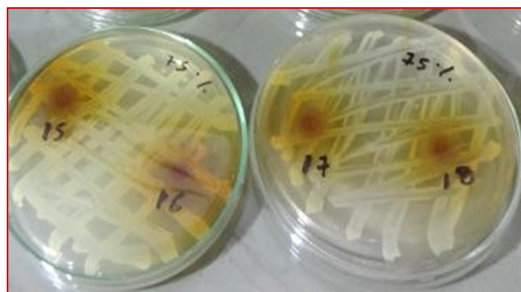
Cuadro N° 9: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 50 % en cepas de *Staphylococcus aureus* atcc25923

Fuente: Elaboración propia

3.7 Resultados de concentraciones al 75 % de *Caesalpinia spinosa* "Tara" a las 72 horas en cepas de *Staphylococcus aureus* atcc25923.

Extracto etanolico de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara"		
Medida de los halos de Inhibición en (mm) a las 72 horas		
N° Placas	Claritromicina	Concentración al 75 %
1	18	16
2	18	16
3	18	16
4	18	16
5	18	16
6	18	16
7	18	16
8	18	16
9	18	16
10	18	16
11	18	16
12	18	16
13	18	16
14	18	16
15	18	16
16	18	16
17	18	16
18	16	14
19	18	16
20	18	16
21	18	16
22	18	16
23	18	16
24	18	16
25	18	16
26	18	16
27	16	16
28	18	16
29	18	16
30	20	16
31	18	16
32	18	16
33	18	16
34	18	16
35	18	16
36	18	16
37	18	16
38	18	16
39	16	16
40	18	16
Promedio	17.9	15.95

Según la lectura de las medidas de inhibición de los discos del extracto etanolico al 75%, se pudo determinar que si presenta un efecto inhibitorio, lo cual podemos describirlo según el porcentaje de inhibición que es el 15.95% del halo inhibitorio según lo detalla en el cuadro N°10 siendo el control positivo la claritromicina lo cual tiene un porcentaje de inhibición al 17.9%



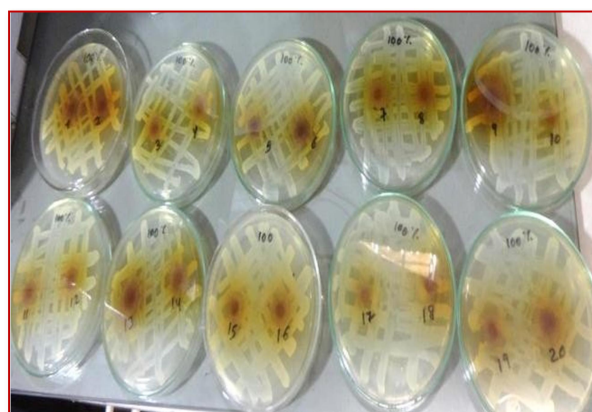
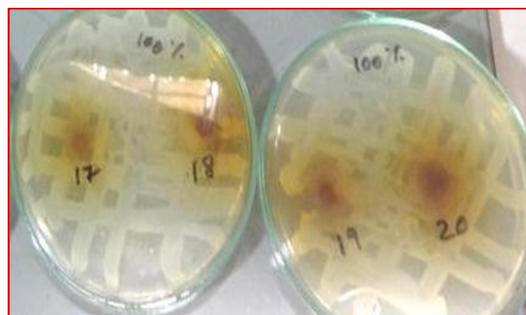
Cuadro N° 10: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 75% en cepas de *Staphylococcus aureus* atcc25923

Fuente: Elaboración propia

3.8 Resultados de concentraciones al 100 % de *Caesalpinia spinosa* "Tara" a las 72 horas en cepas de *Staphylococcus aureus* atcc25923.

Extracto etanolico de <i>Caesalpinia spinosa</i> "Tara"		
Medida de los halos de Inhibición en (mm) a las 72 horas		
N° Placas	Claritromicina	Concentración al 100 %
1	18	16
2	18	18
3	18	16
4	18	18
5	18	18
6	18	18
7	18	18
8	18	18
9	18	18
10	18	18
11	18	18
12	18	18
13	18	18
14	18	18
15	18	16
16	18	18
17	18	18
18	16	16
19	18	18
20	18	18
21	18	18
22	18	18
23	18	18
24	18	18
25	18	18
26	18	18
27	16	16
28	18	18
29	18	18
30	20	16
31	18	18
32	18	18
33	18	18
34	18	18
35	18	16
36	18	18
37	18	18
38	18	16
39	16	18
40	18	18
Promedio	17.9	17.6

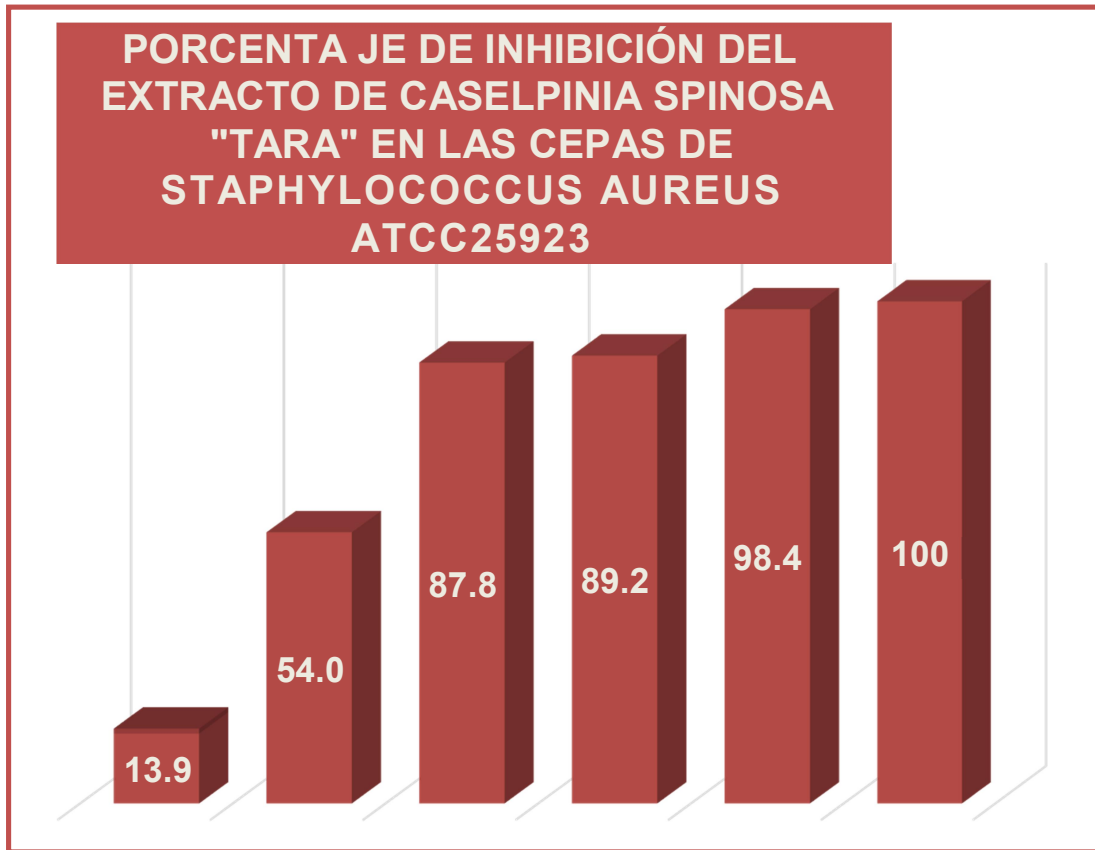
Según la lectura de las medidas de inhibición de los discos del extracto etanolico al 75%, se pudo determinar que si presenta un efecto inhibitorio, lo cual podemos describirlo según el porcentaje de inhibición que es el 17.6% del halo inhibitorio según lo detalla en el cuadro N°11 siendo el control positivo la claritromicina lo cual tiene un porcentaje de inhibición al 17.9%



Cuadro N° 11: Resultados de la inhibición de los discos con el extracto etanolico en concentraciones al 100% en cepas de *Staphylococcus aureus* atcc25923

Fuente: Elaboración propia

3.9 Resultados correspondientes al porcentaje de inhibición de las concentraciones al 12.5% 25% 50% 75% y100% en las cepas de Staphylococcus aureus atcc25923.



CONCENTRACION AL 12.5%	CONCENTRACION AL 25%	CONCENTRACION AL 50%	CONCENTRACION AL 75%	CONCENTRACION AL 100%	CONTROL POSITIVO CLARITROMICINA
------------------------	----------------------	----------------------	----------------------	-----------------------	---------------------------------

IV. DISCUSIÓN

En nuestra investigación que se realizó con el extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* tara en cepas *Staphylococcus aureus* se demostró que posee un efecto antibacteriano. El control positivo que se realizó con la Claritromicina en diferentes concentraciones 12.5%, 25%, 50% ,75% y 100%.

La actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* es proporcional a mayor concentración mayor halo de inhibición, los halos obtenidos frente a *Staphylococcus aureus* son proporcionales a la concentración del extracto.

En nuestra investigación que se realizó con el extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) en cepas *Staphylococcus aureus* se demostró que posee un a efecto antibacteriano. El control positivo que se realizó con la claritromicina en diferentes concentraciones 12.5%, 25%, 50% ,75% y 100%.

El estudio se encontró metabolitos secundarios flavonoides, taninos, alcaloides. Y compuestos fenólicos-

V. CONCLUSION

En el extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (Tara) se encontró metabolitos secundarios como flavonoides y taninos en cantidad abundante; mediante espectroscopia uv visible

El extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “Tara” en las concentraciones de 75% y 100 %, si influyen de manera significativa en el efecto antibacteriano en cepas de *Staphylococcus aureus*, in vitro.

La concentración al 100% del extracto etanólico de *Caesalpinia spinosa* “Tara” presentó efecto inhibitorio en un 98.4% 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 etanólico 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 sobre efectos de plantas con propiedades terapéuticas nativas de nuestro país, ya que existen posibilidades de efectos antibacterianos por descubrir.

También tratar de buscar y realizar las pruebas con otros tipos de cepas que sean motivo de estudio de infecciones.

Debido a que contiene flavonoides con propiedad antioxidante puede ser de gran apoyo para estudios posteriores para innovación tecnológica

Siempre mantener el área libre de microorganismos para un buen resultado de la investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA

1. Organización Mundial de la Salud. Nuevas directrices para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales. [Online]; 2004 [cited 2021 Abril 12. Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>.
2. Ecologico P. TARA (Caesalpinia spinosa) Medicina y Tinte en una sola Especie. [Online].; 2009 [cited 2021 Abril 15. Available from: https://www.peruecologico.com.pe/flo_tara_1.htm.
3. Puente C. Aplicación de un proceso de curtido de pieles bovinas sin cromo utilizando oxazolidina en combinación con caesalpinia spinosa (Tara) marcos unmds, [Lima]: [Tesis]; 2018.
4. Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego. Ministerio de agricultura fomenta producción de tara a gran escala para exportación. [Online].; 2014 [cited 2021 Abril 15. Available from: <https://www.midagri.gob.pe/portal/notas-de-prensa/2009/2900-peru-produce-el-80-de-la-tara-a-nivel-mundial>.
5. Ministerio de Salud. Analisis de la Situación de Salud del Peru. [Online].; 2001 [cited 2021 Abril 19. Available from: http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/1013_OGE64.pdf.
6. Alejandro N, Sanchez J. Efecto antibacteriano in vitro del jarabe con extracto hidroalcoholico de las hojas de pasiflora ligularis juss “granadilla” frente a la cepa de Staphylococcus aureus ATCC25923 Auxiliadora UM, editor. [Lima]: [Tesis]; 2020.
7. Rivera M, Maria del Pilar JP. Efecto antimicrobiano del extracto etanólico de Caesalpinia spinosa “tara” sobre Staphylococcus aureus ATCC 25923 comparado con eritromicina. Revista Medica Vallejana. 2020 Marzo; 9(1).
8. Capcha A. Actividad antibacteriana el extracto hidroalcoholico de hojas y tallos de Desmodium molliculum (Kunth) manayupa frente a Escherichia coli ATCC

25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923 [Tesis] , editor. [Lima]:
Universidad Maria Auxiliadora; 2021.

9. Huamani T. Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de las hojas de *Eugenia stipitata* McVaugh (arazá) frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Salmonella entérica sv Enteritidis* [Tesis] , editor. [Tesis]: Universidad Maria Auxiliadora; 2021.
10. Garay J. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcoholico de *Musa cavendishii* Lam. (Platano morado) frente a la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y la cepa de *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615 [Tesis] , editor. [Lima]: Universidad Maria Auxiliadora; 2020.
11. Laymito M. Efecto antibacteriano del extracto etanolico de vaina de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cultivos de *Escheria coli* estudio in vitro [Tesis] , editor. [Lima]: Universidad Inca Garcilaso de la Vega ; 2020.
12. Córdor C. Actividad antibacteriana in vitro del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Schinus molle* L. (Molle) sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 [Tesis] , editor. [Lima]: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2020.
13. Casanova T. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanolico de las raíces de *zingiber officinale roscoe* (kion) y *cúrcuma longa* l. (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* [Tesis] , editor. [Lima]: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018.
14. Flores C. Efecto antimicrobiano in vitro de extractos de *Caesalpinia spinosa*, sobre *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*. Cuenca UCd, editor. [Cuenca]: [Tesis]; 2019.
15. Flores L. Determinación de la actividad antibacteriana de microorganismos ácido lácticos aislados a partir chicha tradicional expandida en mercados de Quito contra bacterias de: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* Armadas UdIF, editor. [Quito]: [Tesis]; 2020.

16. Ralha A. Revertir la resistencia antibacteriana de *Staphylococcus aureus*: el uso de fitoquímicos como adyuvantes antibióticos y agentes modificadores de la resistencia hacia terapias más efectivas Porto Ud, editor. [Porto]: [Tesis]; 2016.
17. Ballesteros R. Evaluación de la actividad de los extractos activos de *petiveria alliacea* y *caesalpinia spinosa*, con quimioterapéuticos de uso común en células primarias de pacientes con leucemia aguda javeriana pu, editor. [Bogota]: [Tesis]; 2018.
18. Pilamunga L. Curtición de pieles caprinas con la utilización de una combinación de diferentes niveles de *caesalpinia spinosa* (tara) y ácido oxálico pecuarias espdcdc, editor. [Riobamba]: [Tesis]; 2017.
19. Del sur Perú. Descripción del producto Tara. [Online].; 2008 [cited 2021 Abril 21]. Available from: <http://delsurperu.com/images/productos/tara/tara.pdf>.
20. Cabello I. Monografía: Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze. [Online].; 2010 [cited 2021 Abril 21]. Available from: https://repositorio.promperu.gob.pe/bitstream/handle/123456789/1373/Monografia_tara_2010_keyword_principal.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
21. Farmacognosia. [Online].; 2016 [cited 2021 Abril 20]. Available from: <http://farmacognosia-291.blogspot.com/>.
22. Martinez A, Valenzuela G, Mesa M. Manual de Practicas de Laboratorio de Farmacognosia y Fitoquimica Antioquia Ud, editor. [Medellin]: [Tesis]; 2008.
23. Fernandez P, Moreno A, Hernadez I. Farmacología Básica y Clínica. 17th ed. S.A. MP, editor. [España]; 2004.
24. Cervantes E, Garcia R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus*. Revista Latinoamericana de Patologia Clinica y Medicina de Laboratorio. 2014 Enero; I.

25. Martinez A, Martha M, Alemañy J. Resistencia antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina en el Hospital Dr. Gustavo Aldereguía Lima. *MediSur*. 2017 Abril; 48(2).
26. Lock O. Investigación Fitoquímica, Métodos en el estudio de Productos Naturales Perú PUCd, editor. [Lima]; 2004.
27. Estiguar Landeta J. Evaluación de la actividad antibacteriana de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. Treinta Reales, utilizando un modelo in vivo. 2015.
28. Diaz C. Actividad antibacteriana del extracto alcohólico de hojas de *bidens pilosa* L. (Cadillo) sobre bacterias tipificadas -2020 [Tesis] , editor. [Lima]: Universidad Maria Auxiliadora; 2021.
29. Quispe I. Actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (Marco hembra) frente a *Salmonella* entérica serovar Typhi y *Escherichia coli* y su comparación con ciprofloxacino [Tesis] , editor. [Lima]: Universidad Maria Auxiliadora; 2021.

VII. ANEXOS

Anexo N° 1: Matriz de Consistencia.

Evaluación del efecto antibacteriano, in vitro, del extracto etanolico Caesalpinia spinosa (Tara) en cepas de Staphylococcus aureus ATCC 25923

Problema general	Objetivo general	Hipótesis general	Variables y dimensiones	Metodología
Cuál es la actividad antibacteriana, in vitro, de extracto etanolico de Caesalpinia spinosa (tara) en cepas de Staphylococcus aureus.	Evaluar el efecto antibacteriano in vitro, del extracto etanolico de Caesalpinia spinosa(tara) en cepas de Staphylococcus aureus ATCC25923	Las actividad antibacteriana ,in vitro, del extracto etanolico de Caesalpinia spinosa (tara) en cepas de Staphylococcus aureus, es eficaz.	Variables: <ul style="list-style-type: none"> • Actividad bacteriana del Staphylococcus aureus Dimensiones: <ul style="list-style-type: none"> • Identificación de metabolitos secundarios. • Diámetro del halo de inhibición 	Población: Medio de cultivo de Staphylococcus aureus ATCC 25923 una cepa biológicamente. Muestra: Extracto etanolico de las vainas de Caesalpinia spinosa “Tara”. Técnicas de recopilación de información: Observación
Problemas específicos	Objetivos específicos	Hipótesis específicas	Diseño de la Investigación	Instrumento:
1.- ¿Qué metabolito secundario presenta mayor concentración el extracto etanolico de Caesalpinia spinosa (tara)? 2.- ¿En qué concentración el extracto etanolico de Caesalpinia spinosa (tara) posee efecto antibacteriano en cepas Staphylococcus aureus in vitro? 3.-¿ Cuál es la actividad antibacteriana del extracto etanolico de Caesalpinia spinosa en cepas Staphylococcus aureus comparado con claritromicina ?	Determinar la evaluación del efecto antibacteriano del extracto etanolico Caesalpinia spinosa tara en cepas Staphylococcus aureus ATCC25923. comparado con un antibiótico. Determinar la concentración del extracto etanolico Caesalpinia spinosa tara para su efecto antibacteriano en cepas Staphylococcus aureus ATCC25923 Indicar metabolitos secundarios se encuentran presentes en una concentración.	1.-Existen metabolitos secundarios con mayor presencia en el extracto etanolico de Caesalpinia spinosa (tara). 2.-Existe una concentración del extracto etanolico deCaesalpinia spinosa “tara” con efecto antibacteriano en cepas Staphylococcus aureus in vitro. 3.-El extracto etanolico de Caesalpinia spinosa tara en cepas Staphylococcus aureus comparado con claritromicina tiene efecto positivo.	Experimental Transversal Analítico In vitro	Fichas de Observación

Anexo N° 2: Identificación taxonómica de *Caesalpinia spinosa* (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 N° 204-USM-2018

El 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



Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:
619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

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


Anexo N° 3: Identificación de la bacteria Staphylococcus aureus



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-318** Reference Number: ATCC® 25923™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2019/1/31 Release Information: Quality Control Technologist: Mary L Bowman Release Date: 2017/3/1
---	---

Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)

ID System: MALDI-TOF See attached ID System results document.	Other Features/ Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm <div style="text-align: center;">  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE </div>
---	--

**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

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



TESTING CERT #2655.01

Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results



Meaning of Score Values

Range	Interpretation	Symbols	Color
2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus
 Sample Description: 0360
 Sample ID: 360-318
 Sample Creation Date/Time: 2017-02-27T09:05:08.463 MB
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library 1.0, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
E10 (+++)(A)	360-318	Staphylococcus aureus	2.39

Comments:

N/A

Anexo N° 4: Ficha de recolección de datos

Ficha de recolección de datos del efecto antibacteriano in vitro del extracto etanolico de *Caesalpinia spinosa* (tara) en cepas de *Staphylococcus aureus*.

Extracto etanolico de <i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara)					
CONCENTRACIONES					
N° Placa	12.5%	25%	50%	75%	100%
	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)	(mm)
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Ficha de recolección de datos del efecto antibacteriano in vitro del antibiótico de la claritromicina en cepas de *Staphylococcus aureus*.

Control positivo con claritromicina	
CONCENTRACIONES	
N° PLACAS	500M G (mm)
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	

Anexo N° 5: Evidencia de la recolección del vegetal *Caesalpinia spinosa* (tara)



Recolección de las muestras de *Caesalpinia spinosa* (tara).

Anexo N°5. Preparación del material vegetal *Caesalpinia spinosa* (tara)



Se lavó con 0.01% de cloro + agua destilada y por tres días luego fueron secado al ambiente



Se procedió a la limpieza de las vainas de Tara retirando las semillas



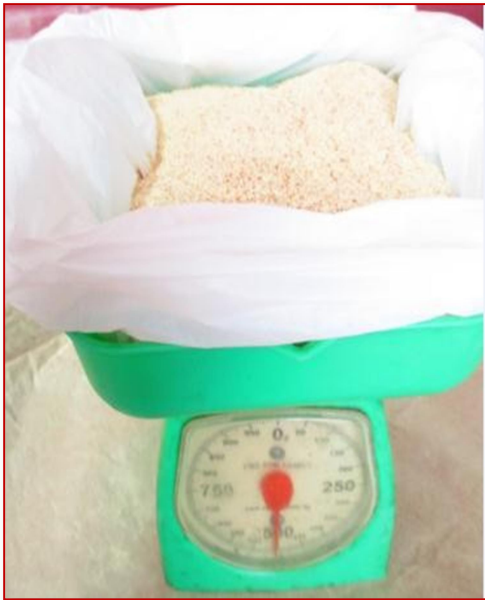
Se llevó al laboratorio a la estufa para el secado a 40 °C por 72 horas.



Después de las 72 horas del secado se procedió a moler las vainas hasta obtener un polvo fino.



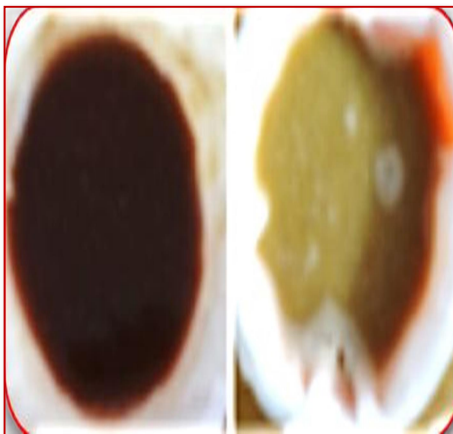
Anexo N° 6: Evidencia de la preparación del extracto etanolico.



Se pesó 500 gr. de polvo fino de tara. Para elaborar cada extracto.



Se adiciono 2000 ml. de alcohol al frasco ámbar debidamente rotulado para su maceración.



El extracto se dejó macerar por un tiempo de 15 días.



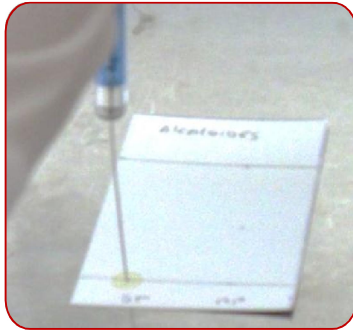
**Después del macerado se ha procedido a filtrar con:
1^{ro} papel filtro Whatmann N°41
2^{do} con papel filtro Whatmann N°2
3^{ro} con papel filtro Whatmann N°1**

Anexo N° 7: Evidencia del Screening Fitoquímico – para la identificación de Metabolitos Secundarios.



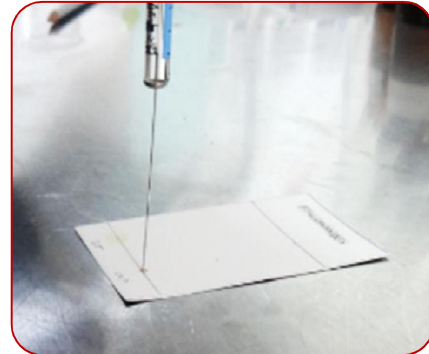
Anexo N° 8: Evidencia de la cromatografía en capa fina.

Cromatografía- Alcaloides.

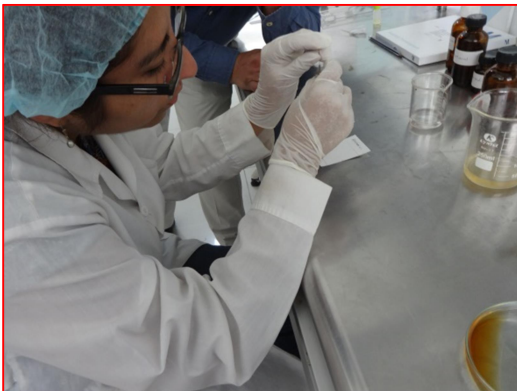


Se usó fase móvil Metanol: Agua en proporción de (25:75) | comparación se usó un estándar a Cafeína en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 μ l, en la misma cantidad

Cromatografía - flavonoides



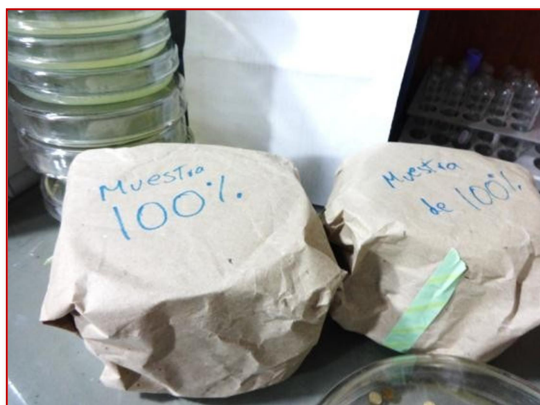
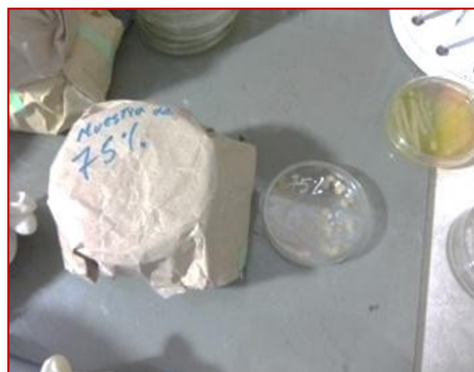
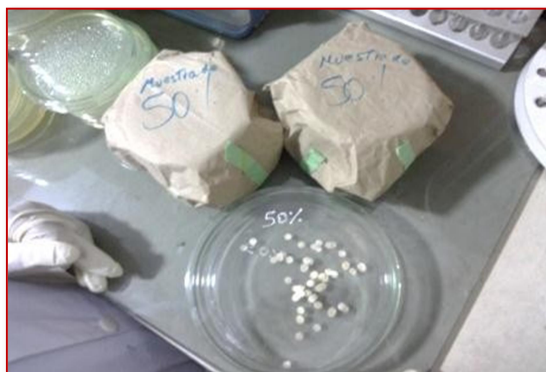
La fase móvil Butanol – Agua - Ácido acético glacial en proporción de (20:15:5) Para la comparación se usó estándar de Quercetina en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 μ l, caso similar con la



Anexo N° 9: Evidencia del ensayo microbiológico.

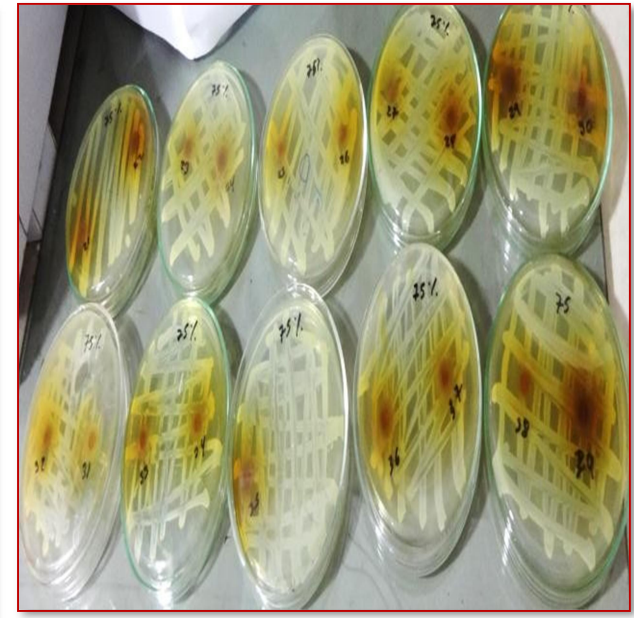
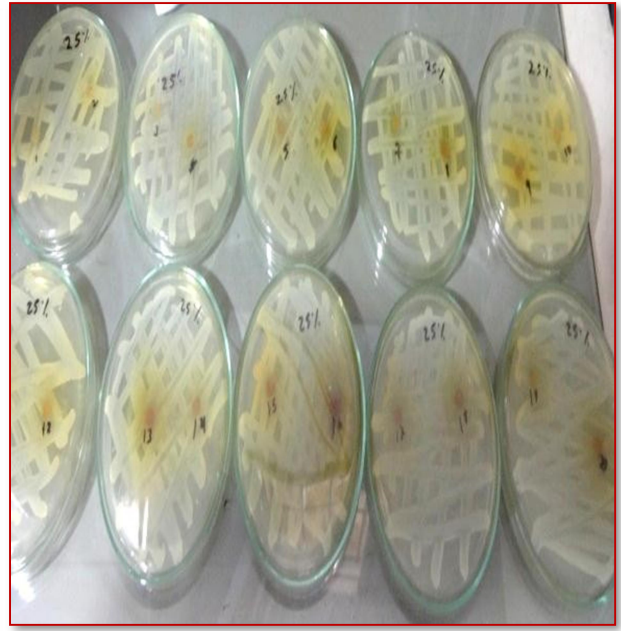
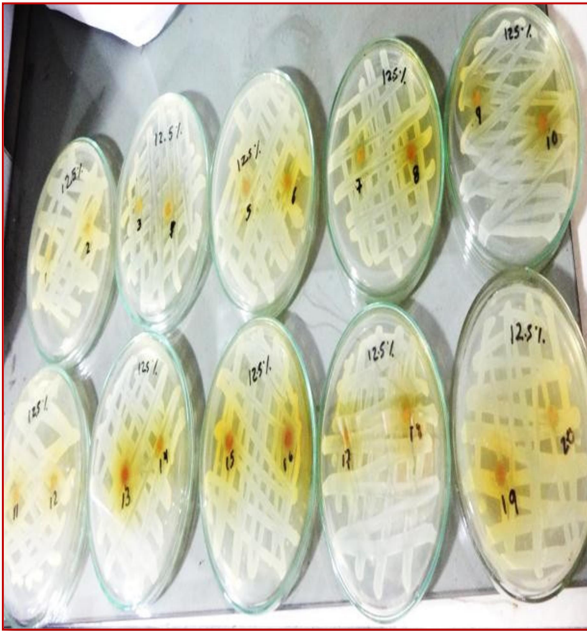


Anexo N° 12: Preparación de los discos para la determinación del efecto antibacteriano con las distintas concentraciones del extracto etanolico.



Se procedió a colocar los discos con el extracto etanolico en las diferentes concentraciones (12.5%, 25%, 50%, 75% y 100%). y se colocó en la estufa por un tiempo de 72 horas, luego se realizará las lecturas En para observar el efecto antibacteriano ante la cepa.

Anexo N° 13: Lectura de los discos para la determinación de la inhibición de las distintas concentraciones del extracto etanolico



Se muestra los halos de inhibición de los disco del extracto etanolico de las concentraciones (12.5%, 25%, 50% y 75%) en las cepas de *Staphylococcus aureus*.

