

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**

**NUEVOS TIEMPOS, NUEVAS IDEAS**



**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**“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*.”**

**Tesis para optar al Título Profesional de Químico  
Farmacéutico y Bioquímico**

**TESISTAS:**

**EMA EDITH PUENTE CONTRERAS  
SHIRLEY JEANETTE TORRES CASANOVA**

**ASESOR:**

**MG. Q.F. LUIS ALEJANDRO ROA CHUNGA**

**LIMA – PERÚ**

**2018**

**TITULO:**

**“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*.”**

## **DEDICATORIA**

A Dios por darnos siempre fortaleza y perseverancia.

Dedico este trabajo a mis adorados padres Mirtha y Walter por el apoyo y el amor incondicional que siempre me brindaron en todo el tiempo de mi carrera universitaria y por toda la confianza que depositaron en mí, también se lo dedico a mis hermanos Jenny, Mirtha y Michael quienes siempre me alentaron a seguir adelante con sus consejos incansables .

Jeanette Torres C.

A mis padres Ema e Isaac quienes me apoyaron durante todo la etapa de mi formación profesional, de manera especial a mi madre quien ahora es mi ángel gracias por tus sabios consejos y tu inmenso amor fuiste y serás siempre mi mayor tesoro. A mis hermanos José y Mydory quienes estuvieron al pendiente de mí aconsejándome y alentándome a seguir adelante, gracias por el amor que siempre me demuestran.

Ema Puente C.

## AGRADECIMIENTO

A Dios porque pude culminar mi carrera a pesar de tantos obstáculos que se presentaron durante mi etapa académica.

Al Dr. Jorge león y a la microbióloga Melissa quienes nos ayudaron y apoyaron en todo el proceso de la parte experimental del trabajo, gracias por el esfuerzo y dedicación que también le pusieron para poder obtener todos nuestros resultados.

Al Dr. Roa quien en todo momento nos apoyó durante el proceso de desarrollo de nuestro proyecto.

## INDICE GENERAL

Dedicatoria

Agradecimiento

Índice de Tablas

Índice de Figuras

Índice de Anexos

Resumen

Abstract

Introducción .....	1
<b>CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>3</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática .....	3
1.2. Identificación y formulación del problema .....	4
1.2.1. Problema general .....	4
1.2.2 Problemas específicos .....	4
1.3. Objetivos de la investigación .....	5
1.3.1. Objetivo general .....	5
1.3.2. Objetivos específicos .....	5
1.4. Justificación de la investigación .....	5
1.5. Limitaciones de la investigación .....	6
<b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>7</b>
2.1. Antecedentes de la Investigación .....	7
2.1.1. Antecedentes nacionales .....	7
2.1.2. Antecedentes internacionales .....	8
2.2. Bases Teóricas.....	10
2.2.1 PALILLO ( <i>Cúrcuma longa</i> L.).....	10
2.2.1.1 Clasificación taxonómica.....	10
2.2.1.2 Historia.....	10
2.2.1.3 Descripción botánica.....	11
2.2.1.4 Distribución y Hábitat.....	11
2.2.1.5 Composición Química.....	11
2.2.1.6 Composición Nutricional.....	12
2.2.1.7 Propiedades Farmacológicas.....	12
2.2.2 KION ( <i>Zingiber officinale roscoe</i> ).....	13

2.2.2.1	Clasificación taxonómica.....	13
2.2.2.2	Historia.....	13
2.2.2.3	Descripción botánica.....	14
2.2.2.4	Distribución y Hábitat.....	14
2.2.2.5	Composición Química.....	15
2.2.2.6	Composición Nutricional.....	16
2.2.2.7	Propiedades Farmacológicas.....	16
2.2.3	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	17
2.2.3.1	Definición.....	17
2.2.3.2	Características Morfológicas.....	17
2.2.3.3	Epidemiología.....	17
2.2.3.4	Factores de Virulencia.....	18
2.2.3.5	Patogenia.....	18
2.2.3.6	Diagnostico.....	19
2.2.3.7	Medios de Aislamiento.....	19
2.2.3.8	Identificación.....	19
2.2.3.9	Resistencia Antimicrobiana.....	19
2.2.4	Método de Macrodilución.....	20
2.2.5	Metabolitos Secundarios.....	21
2.2.5.1	Isoprenoides.....	21
2.2.5.2	Alcaloides.....	22
2.2.5.3	Derivados Fenólicos.....	22
2.2.6	Extracción.....	23
2.2.6.1	Tipos de Extracción.....	23
2.2.7	Extractos.....	24
2.3.	Formulación de Hipótesis.....	25
2.3.1.	Hipótesis general .....	25
2.3.2.	Hipótesis específicas .....	26
2.4.	Operacionalización de Variables e Indicadores .....	26
2.5.	Definición de Términos Básicos.....	27
<b>CAPITULO III. METODOLOGÍA</b> .....		<b>29</b>
3.1.	Tipo y Nivel de Investigación .....	29
3.2.	Diseño de la Investigación .....	29

3.3. Población y Muestra de la Investigación .....	30
3.3.1. Población .....	30
3.3.2. Muestra .....	30
3.4. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	30
3.5. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos.....	30
3.6. Procedimiento Experimental .....	30
3.6.1 Identificación de las muestras en estudio .....	30
3.6.2 Recolección de la muestra vegetal .....	30
3.6.3 Obtención del Extracto Etanólico .....	31
3.6.4 Análisis fitoquímico de los metabolitos secundarios .....	33
3.6.5 Procedimiento Experimental de la actividad antibacteriana .....	35
3.6.6 Preparación de las concentraciones .....	36
3.6.7 Preparación de controles .....	37
3.6.8 Parte Experimental .....	37
<b>CAPITULO IV. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS .....</b>	<b>38</b>
4.1. Presentación de Resultados .....	38
4.2. Contrastación de la hipótesis .....	39
4.3. Discusión de Resultados .....	45
<b>CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>47</b>
5.1. Conclusiones .....	47
5.2. Recomendaciones .....	48
Referencias Bibliográficas .....	49
Anexos.....	55

## ÍNDICE DE TABLA

Tabla N° 1	Composición nutricional del <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion).....	16
Tabla N° 2	Categoría de interpretación de las pruebas de sensibilidad de los antimicrobianos.....	20
Tabla N° 3	Operacionalización de las variables.....	26
Tabla N° 4	Tamizaje Fitoquímico del Extracto Etanólico de la raíz de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (Kion).....	38
Tabla N° 5	Tamizaje Fitoquímico del Extracto Etanólico de la raíz de <i> cúrcuma longa L.</i> (Palillo).....	39
Tabla N° 6	Resultados obtenidos en los ensayos del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (Palillo) según el método de macrodilucion.....	41
Tabla N° 7	Resultados obtenidos en el ensayo de concentración inhibitoria mínima del extracto etanólico de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion).....	42
Tabla N° 8	Resultados obtenidos en el ensayo de concentración inhibitoria mínima del extracto etanólico de <i>Cúrcuma longa L.</i> (Palillo).....	43



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1	Flujograma para la obtención del extracto etanólico.....	32
Figura N° 2	Obtención de concentraciones.....	36
Figura N° 3	Concentración mínima inhibitoria para los extractos según el método de macrodilución.....	41
Figura N° 4	Concentración mínima inhibitoria para el extracto etanólico de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (Kion).....	43
Figura N° 5	Concentración mínima inhibitoria para el extracto etanólico de <i>Cúrcuma longa L.</i> (Palillo).....	44
Figura N° 6	Selección y corte del <i>Zingiber officinale roscoe</i> (Kion).....	60
Figura N° 7	Selección y corte de <i>Cúrcuma longa L.</i> (Palillo).....	61
Figura N° 8	Maceración y Filtración del extracto etanólico del <i>Zingiber officinale roscoe</i> (Kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (Palillo).....	62
Figura N° 9	Proceso de extracción etanólico.....	63
Figura N° 10	Secado del extracto etanólico .....	63
Figura N° 11	Obtención de metabolitos secundarios.....	64
Figura N° 12	Descongelamos la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> a temperatura ambiente.....	65
Figura N° 13	Reactivación de la cepa en caldo nutritivo.....	65
Figura N° 14	Sembrío de bacteria e incubación a 37°C por 24 horas.....	65
Figura N° 15	Preparación del inóculo bacteriano.....	66
Figura N° 16	Preparación de placas de Mueller Hinton.....	67
Figura N° 17	Preparación de las concentraciones.....	67
Figura N° 18	Procedimiento experimental de las muestras frente a las cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	68

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N°1	Matriz de Consistencia .....	55
Anexo N°2	Certificado de muestra botánica <i>cúrcuma longa L.</i> (palillo) .....	57
Anexo N°3	Certificado de muestra botánica <i>Zingiber officinale roscoe.</i> (Kion).....	58
Anexo N°4	Ficha de recolección de datos para la obtención de metabolitos secundarios .....	59
Anexo N°5	Ficha de recolección de datos para determinar la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (Kion) y <i>cúrcuma longa L.</i> (palillo).....	60

## RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, mediante el método de macrodilución (MIC). La muestra fue recolectada en la ciudad de Chanchamayo, provincia de Chanchamayo, departamento de Junín. Se identificó taxonómicamente en el museo de historia natural de la Universidad mayor de San Marcos, según el sistema de Clasificación de Cronquist (1988). Durante la marcha fitoquímica se obtuvo los siguientes metabolitos secundarios: quinonas, alcaloides, lactonas, de la raíz de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y triterpenos y compuestos fenólicos de la raíz de *Cúrcuma longa L.* (Palillo).

El estudio de la actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, se realizó en el Laboratorio de Ecología Microbiana de la Facultad de Ciencias Biológicas - Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se utilizó cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Los resultados de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico del *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo) fue de 2.34mg/ml y 1.17mg/ml respectivamente por tanto ambos extractos tienen actividad antibacteriana.

**Palabras Clave:** *Zingiber officinale roscoe*, Kion, *Cúrcuma longa L.* Palillo, *Staphylococcus aureus*, extracto etanólico, macrodilución.

## ABSTRACT

The purpose of work was to determine the in vitro antimicrobial activity of the etanólico stick extract *Curcuma longa L.* (Palillo) and *Zingiber officinale roscoe* (Kion) against *Staphylococcus aureus* strains, using the Macrodilution Method (MIC). The sample was collected in the city of Chanchamayo of the Department of Junín. And it was identified taxonomicly in the San Marcos herbarium of the Natural History Museum of the Universidad Mayor de San Marcos, according to the Cronquist Classification System (1988). During the March phytochemical was obtained following secondary metabolites: root of *Zingiber officinale roscoe* (Kion) Quinones, alkaloids, lactones and root of *Curcuma longa L.* (stick) triterpenes and phenolic compounds.

The study of in vitro antimicrobial activity of the ethanolic stick extract *Curcuma longa L.* (Palillo) and *Zingiber officinale roscoe* (Kion) against strains of *Staphylococcus aureus* "was carried out in the laboratory of Microbial Ecology of the Faculty of Biological Sciences-University National Mayor de San Marcos.

For the development of the methods, strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were used. The results of the minimum inhibitory concentration of the stick Ethanolic extract *Curcuma longa L.* (Palillo) and *Zingiber officinale roscoe* (Kion) was 2.34mg/ml and 1.17mg/ml respectively, therefore both extracts have antibacterial activity.

**Key words:** *Zingiber officinale roscoe*, ginger, *Curcuma longa L.* stick, *Staphylococcus aureus*, macrodilution, ethanolic extract.

## INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales son recursos naturales que han sido utilizadas desde la antigüedad,<sup>19</sup> estos recursos naturales eran usados para curar, tranquilizar, perfumar, sazonar y cocinar y fue así que estas civilizaciones antiguas nos dejaron conocimientos que han pasado de generación en generación.<sup>10</sup>

Desde hace muchos años los fármacos naturales como las plantas medicinales, fueron el principal y a veces el único recurso que tenían los médicos. Esto hizo que el conocimiento sobre las plantas se profundizara para poder conocer sus propiedades medicinales llevando a la investigación y estudio de sus metabolitos.<sup>19</sup>

La relación que existe entre salud y alimentación es evidente en nuestra generación<sup>10</sup> por ello es importante incidir y fomentar el consumo de alimentos naturales que tienen múltiples propiedades como una alternativa para mejorar la nutrición y la salud de la población, en la actualidad los antibióticos son la principal fuente para tratar las infecciones microbianas y con ello se creyó que se podía erradicar las enfermedades infecciosas, pero hoy en día por el uso indiscriminado de los antibióticos ha producido una resistencia frente a las cepas multidrogo resistente, llegando a ser un problema que va incrementando y se va haciendo cada vez más complejo que afecta a toda la población en el Perú y alrededor del mundo.<sup>10</sup> Por esta resistencia microbiana es también que surge el impulso a la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, prestando atención de esta manera a los recursos naturales (plantas) para el desarrollo de nuevos fármacos y gracias a la disciplina de la Fitoterapia darnos cuenta que podemos conseguir resultados con menos efectos secundarios, biodisponibilidad y toxicidad reducida.<sup>4</sup>

El *Staphylococcus aureus*, es una de las cepas más virulenta de las diversas especies de estafilococos, y en la actualidad son la principal causa de morbilidad y mortalidad, sin mencionar la gran variedad de antibióticos anti estafilocócicos con los que contamos hoy en día para combatirlo.<sup>2</sup> El *Staphylococcus aureus* origina infecciones de origen común que varían desde infecciones menores de la piel o partes blandas, hasta infecciones generalizadas que pueden terminar con la vida.<sup>19</sup>

Una de las plantas investigadas en el presente trabajo es el jengibre (*Zingiber officinale roscoe*) de la familia Zingiberaceae crece como rizoma horizontal, es originario de las zonas tropicales del sureste asiático, naturalizada en Jamaica, África, en las Indias occidentales, México y en la Florida.<sup>2</sup> Su cultivo es muy antiguo, utilizado como medicina desde la antigüedad, grabado a principios de los textos en sánscrito, chino y antigua griega, romana, árabe y la literatura médica especialmente en China.<sup>11</sup> En Europa fue conocido desde la

antigüedad por griegos y romanos,<sup>2</sup> las culturas Hindúes y China utilizaban el jengibre con fines curativos, su principal virtud era brindar alivio digestivo. Era considerado como el yang- (calor), o comida picante, la cual equilibra la comida fría –ying- para crear armonía.<sup>2</sup> Necesita de un clima tropical húmedo que tenga precipitaciones de 2000mm una vez al año, con una temperatura mayor a 30°C, que tenga una humedad de 80% a 95% aproximadamente, y una altitud de 0 a 1600m.s.n.m. Su producción es mejor cuando crecen bajo sombra. El suelo, en el que se produce mejor tiene que ser de fácil drenaje y muy rico en materia orgánica, debe contar con un pH de 5,0 – 7,0. Es por eso que el Perú con su gran riqueza natural cuenta con una serie de microclimas, con características similares aptas para el desarrollo de esta especie, la cual se produce ampliamente en el Departamento de Junín.<sup>2</sup>

Los rizomas de jengibre se han utilizado para el tratamiento de una variedad de enfermedades como la artritis reumatoide, hipercolesterolemia, enfermedades neurológicas, asma. Su uso común es en casos de cólicos y flatulencias, antiulcerosa, antiespasmódica, protector hepático, antitusiva, expectorante y estreñimiento, calambres, en casos febriles como diurético, por que causa fuerte transpiración.<sup>10-2</sup> La función antioxidante que tiene el jengibre desempeña un papel importante en la protección frente al daño oxidativo, y por ello tiene efectos terapéuticos en diversas patologías, como son la cardiopatía isquémica o el cáncer.<sup>2</sup> Dentro de los antioxidantes se encuentra el grupo de los polifenoles y en los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles puede mejorar la salud.<sup>10</sup> En el Perú, existe poco aprovechamiento del jengibre por la falta de información y conocimiento respecto a su utilización.

La curcumina (diferuloilmetano) es la que le da el color amarillo característico de los rizomas de esta planta, y es el principio activo responsable de su actividad biológica. Su estructura fue determinada en 1910,<sup>7</sup> también curcuminoides (derivados fenólicos), péptidos, proteínas y residuos de metionina con propiedades antioxidantes, presenta propiedad antiinflamatoria asociada a la presencia de curcumina, y polisacáridos (arabinogalactanos), que determinan sus principales indicaciones.<sup>9</sup>

La cúrcuma es valorada por la Medicina Ayurvédica como una planta energética, amarga, astringente, picante, que tiene una actividad de antibiótico natural, capaz de actuar en los tejidos del cuerpo con efectos notables en los sistemas digestivo, circulatorio y respiratorio.<sup>9</sup>

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Descripción de la realidad problemática

Las infecciones bacterianas son un tema de importancia en la salud pública y a nivel mundial, así como la presencia de patógenos relacionados con enfermedades muy comunes, como la enfermedad diarreica aguda, infecciones respiratorias agudas e infecciones intrahospitalarias, llegando a ser un problema prioritario.<sup>30</sup>

El género *Staphylococcus* que fue identificado en 1882 por primera vez, fue asociada con mayor número de cuadros clínicos el *Staphylococcus aureus*, en su mayoría infecciones leves, como la forunculosis, el impétigo y la foliculitis; pero también en cuadros, como la neumonía, la osteomielitis, las bacteriemias y la endocarditis, poniendo en riesgo la vida de los pacientes sobre todo niños y ancianos ya que el principal reservorio se encuentra en la colonización de la mucosa nasal de las personas y animales de la comunidad. En 1990, se reportan infecciones ocasionadas por *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente (SAMR) y en personas que no habían tenido contacto con centros de salud, esto marco el surgimiento de una nueva cepa de *Staphylococcus aureus*, denominada *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente (SAMR-AC).<sup>3-6</sup>

En un inicio, involucraban infecciones relativamente leves, localizadas en piel y tejidos blandos (como abscesos, foliculitis, celulitis e impétigo); sin embargo, también casos de infecciones graves de partes blandas (fasciitis necrotizante), asociados a bacteriemia y neumonía, que han sido responsables del aumento en la mortalidad.<sup>3-6</sup>

Durante la década del 90 se reportaron numerosos brotes de SAMR sin relación con centros de salud, los primeros fueron observados en poblaciones mayores del Pacífico sur, luego simultáneamente en Europa y Sur América. El primer reporte suramericano lo realizó Galiana en 2003, en Uruguay, posteriormente, Ribeiro y en Brasil (2005), y en Argentina (2007).<sup>3</sup>

Se reportaron casos en EE. UU., Australia, Suiza, Francia, Reino Unido, Nueva Zelanda, Finlandia, Canadá y Samoa.<sup>5-6</sup> En Sudamérica se ha descrito en Uruguay, Argentina, Chile, Ecuador, Colombia y Venezuela.<sup>7-2</sup> Es por este motivo que las infecciones por *Staphylococcus aureus* actualmente son consideradas una enfermedad importante, que no solo involucra a países desarrollados, sino también a países subdesarrollados.

A nivel mundial se estima que dos billones de personas presentan esta bacteria, al ser la mucosa nasal el lugar más frecuente de colonización. Estos hechos han conllevado a una serie de investigaciones sobre la prevalencia de portadores, la relación del riesgo de infección con el estado portador y a plantear la posibilidad de eliminar este estado como medida de prevención para infecciones.<sup>3-5</sup> Debido a esto no solo se debe acudir a tratamientos con medicamentos sino también a la prevención con opciones naturales con las que contamos en la naturaleza.<sup>13</sup>

En Perú se han reportado los primeros casos de infecciones de *Staphylococcus aureus* resistente a metilina de origen comunitario,<sup>14</sup> por lo que estas cepas podrían estar circulando en la comunidad a través de la colonización nasal. En vista de los reportes sobre infecciones graves de SAMR-AC en países vecinos, se vuelve urgente vigilar los reservorios de esta bacteria.

Existen muchos productos naturales de los cuales podemos obtener sustancias de alto valor terapéutico, por ende en este proyecto de investigación emplearemos nuestros conocimientos para identificar el efecto antibacteriano de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo) para los cuales recolectamos las raíces y el estudio se llevó a cabo en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el laboratorio de Ecología Microbiana de la facultad de Ciencias Biológicas.

## **1.2 IDENTIFICACION Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

### **1.2.1 PROBLEMA GENERAL**

¿Cuál es el 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*?

### **1.2.2 PROBLEMAS ESPECÍFICOS**

1. ¿Cuáles son los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo)?
2. ¿Cuál es el 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* mediante el método de macrodilución?



3. ¿Cuál es la concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*?

### 1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

#### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el 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*.

#### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo).
2. Determinar el 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* mediante el método de macrodilución.
3. Determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

### 1.4 JUSTIFICACION DE LA INVESTIGACIÓN

Hace algunos años se ha visto más interés y se ha impulsado el uso de terapias alternativas con productos naturales, los cuales requieren de conocimientos y estudios para comprobar su efectividad y ver el grado de toxicidad para poder ser utilizados.<sup>17</sup>

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo dar a conocer y difundir la importancia teórica de las propiedades del *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo) ya que ambas aportarán el conocimiento científico sobre la existencia de plantas medicinales con propiedades antibacterianas, las cuales podrían ser alternativas de prevención y tratamiento en infecciones frecuentes, Infecciones nosocomiales que son uno de los problemas más importantes en salud pública y que tiene gran trascendencia económica y social, por lo que es necesario conocer la

epidemiología y el impacto que estas infecciones tienen en el paciente crítico. Además de ser un gran desafío para las instituciones de salud y el personal médico responsable de su atención en las unidades donde se llegara presentar, son de importancia clínica y epidemiológica debido a que condicionan altas tasas de morbilidad.<sup>17-18</sup>

Gracias a las bondades de la medicina tradicional se pueden elaborar fármacos naturales que contengan compuestos químicos propios de la planta, con propiedades farmacológicas que nos ayuden a combatir la actividad antibacteriana sobre bacterias más comunes que son el *Staphylococcus aureus* permitiendo que los pacientes de bajos recursos económicos y aquellos que presenten alergias a determinados compuestos químicos puedan acceder a estos productos naturales como alternativas de tratamiento. <sup>16</sup>

## **1.5 LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN**

Durante el proceso de nuestra investigación se tuvo ciertas limitaciones como la obtención de la cepa en estudio y la correcta manipulación para lo cual antes de su uso se tuvo una previa capacitación, también se tubo ciertas limitaciones en la obtención de reactivos para realizar el reconocimiento de metabolitos secundarios en la marcha fitoquímica.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACION

##### 2.1.1 ANTECEDENTES NACIONALES

**Enríquez F, et al (2007)**, este trabajo de investigación tuvo como objetivo establecer los parámetros de calidad e identificación de los fitoconstituyentes del rizoma de *Zingiber officinale roscoe* cultivado en nuestro país. Dicho estudio farmacognóstico elaborado se basó en la identificación, clasificación taxonómica, pérdida de humedad mediante secado, y parámetros de calidad de la droga como son la macromorfología, determinación de sustancias solubles en agua y en etanol 70°, determinación de cenizas totales, determinación de cenizas solubles en agua y de cenizas insolubles en ácido clorhídrico. Se determinó índices menores a los máximos establecidos, mostrando la calidad y pureza de nuestra droga. La especie fue identificada en el Herbarium Truxillensis de la Universidad Nacional de Trujillo, siendo nuestra especie la misma de la cual se conocen sus efectos terapéuticos publicados a nivel mundial. El estudio químico cualitativo se realizó mediante tamizaje fitoquímico según técnicas de la Universidad de la Habana (Dra. Miranda Martínez M.) Quien realiza el método de extracción discontinua: maceración con agitación constante y solvente de polaridad creciente; éter dietílico, etanol 70°GL y agua. Las reacciones de coloración y precipitación que se obtuvieron en el tamizaje fitoquímico nos señalaron la presencia de alcaloides, lactonas, aceites, glicósidos cardiotónicos, triterpenos, quinonas, resinas, taninos, flavonoides, azúcares reductores, antocianidinas, mucílagos y aminoácidos; en el estudio tampoco no se evidenció saponinas, esteroides, cumarinas y catequinas.<sup>33</sup>

**Palomino K. (2014)**, en el siguiente trabajo de investigación la finalidad es: demostrar en *Staphylococcus aureus* la sinergia del extracto etanólico de *Solanum sessil florum* en Vancomicina. Metodología: El método de difusión de discos kirby Bauer se utilizó para esta determinación. Conclusiones: luego de determinar el tamaño de halo en los medios de cultivo con las cepas correspondientes, se pudo señalar el efecto, los halos de inhibición midieron 26 mm, el cual es el mayor promedio de diámetro de inhibición (duraffourd) Resultados: la capas fueron sumamente sensible a la concentración del extracto etanólico.<sup>35</sup>

**Apares R. (2016)**, la finalidad de esta investigación fue determinar el efecto sinérgico antimicrobiano de la asociación del aceite esencial de *Origanum vulgare* con

Amikacina, comparado con Amikacina sobre cepas de *Escherichia coli*. Metodología: Se desarrolló el estudio experimental cuantitativo donde se utilizó placas Petri conteniendo cepas de *Escherichia coli*, aceite esencial de orégano y Amikacina. Se empleó el método de Kirby Bauer (discos de difusión) en 25 placas Petri. El grupo experimental fue tratado con aceite esencial de orégano y Amikacina. En el grupo control se utilizó Amikacina, luego se estudió la medición de los halos y se anotaron los datos en la ficha de recolección de datos. Resultados: Se encontró los halos de inhibición para *Origanum Vulgare* de 30.8 mm y para Amikacina 30.0 mm, contra *Escherichia coli*. En conclusión se determinó que el aceite esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina tiene una diferencia entre ambos halos de inhibición de 0.8 mm registrándose un valor levemente superior a favor de la combinación del aceite de *Origanum vulgare* y Amikacina, el cual no es significativo.<sup>34</sup>

**Aguirre A, et al, (2017)**, en el siguiente trabajo de investigación, obtuvieron el aceite esencial desde la raíz de *Cúrcuma longa L.* (cúrcuma) empleando la técnica de destilación por arrastre de vapor de agua con el objetivo de poder estudiar su actividad antimicrobiana in vitro en *Cándida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. El aceite de cúrcuma tiene un elevado contenido en curcumina, y este su principal metabolito, tiene amplios efectos terapéuticos, entre ellas potentes propiedades antitumorales, antioxidantes y antiinflamatorias.<sup>32</sup>

### 2.1.2 ANTECEDENTES INTERNACIONALES

**Mesa M. (2000)**, el presente estudio menciona que la cúrcuma es una planta de origen asiático utilizada comúnmente como una especia en la cultura asiática. Donde su principal componente es la curcumina, uno de los metabolitos activos que es responsable de su actividad biológica. Se tiene conocimiento que esta sustancia es estable en el estómago y en el intestino delgado; su elevada lipofilia le permite una rápida absorción gastrointestinal por difusión pasiva.<sup>40</sup>

**Guevara T. (2011)**, en el presente trabajo de investigación el objetivo fue comprobar la eficacia in vivo de un gel para el acné a base de Calaguala (*Campylone urumam phostenon*). Metodología. "Para lo cual se efectuó la extracción de los metabolitos secundarios de la planta seca mediante percolación y la cuantificación del marcador químico se realizó mediante métodos espectrofotométricos alcanzándose resultados positivos". Resultados: El tratamiento de ocho semanas mediante controles semanales de conteo de granos y por simple visualización demostraron eficacia en

comparación con el control OXY. Conclusiones: Existe una fabulosa mejoría en las personas con acné lo que confirma su eficacia terapéutica.<sup>39</sup>

**Oneyda C. (2012)**, las plantas medicinales, por sus múltiples propiedades terapéuticas (antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígeno y antiinfecciosa, entre otras) han demostrado ser intensamente eficaces en todas las civilizaciones. Con el avance de las investigaciones actuales en esta materia, existen en Cuba grandes posibilidades de obtener nuevos fitofármacos con bajo potencial de reacciones adversas. A tales efectos se realizó una revisión bibliográfica con vistas a presentar los avances en la caracterización farmacotóxica de la planta *Cúrcuma longa L.* para completar así la información disponible en las bases de datos nacionales al respecto.<sup>41</sup>

**Winkelmann R, et al, (2015)**, la finalidad del presente estudio es Demostrar que varios extractos de *Polypodium leucotomos* (PLE) empleados tópicamente o tomados oralmente poseen varios efectos beneficiosos antioxidantes, fotoprotectores, antimutagénicos e inmunorreguladores”. Metodología: Se incluyeron 19 estudios humanos y 6 estudios orales, se administró a dosis diarias que oscilaban entre 120 mg y 1080 mg. Resultados: El extracto de *Polypodium Leucotomos* es bien tolerado en todas las dosis administradas y asociados con un riesgo insignificante de efectos secundarios por lo cual se llegó a la siguiente conclusión: PLE demostró eficacia clínica como antioxidantes.<sup>37</sup>

**Haro A. (2015)**, dicho estudio tiene como Objetivo: Demostrar la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de Tara 100% e hipoclorito de sodio 5,25% sobre el *E. faecalis* .metodología: “Empapar discos con 50uL de cada solución y colocándolos en medios de cultivo Mueller Hilton previamente preparados con colonias jóvenes de *E. faecalis* ATCC 29212, incubando las muestras a 37°C de 24 a 72 horas”. Resultados “Obtenidos en halos inhibitorios demostraron que ambas soluciones fueron capaces de producir inhibición del crecimiento bacteriano; siendo durante las primeras 24 h el NaOCl 5,25% más efectivo en comparación con el extracto de Tara 100%.” Conclusiones: El extracto de Tara 100% tiene un efecto antimicrobiano mayor y prolongado en contraste con el NaOCl 5,25%, el cual mostró un efecto antibacteriano menor.<sup>36</sup>

## 2.2 BASES TEORICAS

### 2.2.1 PALILLO (*Cúrcuma longa L.*)

#### 2.2.1.1 Clasificación taxonómica

División	: Magnoliophyta
Clase	: Liliopsida
Subclase	: Zingiberidae
Orden	: Zingiberales
Familia	: Zingiberaceae
Género	: <i>Cúrcuma</i>
Especie	: <i>Cúrcuma longa L.</i>

#### 2.2.1.2 Historia

En la antigüedad los árabes y persas utilizaban la cúrcuma con por su color, creyendo que era un tipo de azafrán y lo llamaron kourkoum, palabra que dieron luego los españoles como cúrcuma, La cúrcuma se la conoce como sal de Oriente.<sup>5</sup> Una de las primeras referencias que se tiene de la cúrcuma es como remedio para la ictericia y como tratamiento para la lepra<sup>8</sup>. La cúrcuma se asoció con la fertilidad de la tierra y la fertilidad de la gente que la habita, se le dio un papel importante en las tradiciones hindúes ya que se le atribuyeron cualidades mágicas.<sup>8</sup>

En la antigüedad la cúrcuma también fue importante en los ritos mortales, en la época medieval en la India, el cuerpo de las mujeres casadas a la que se les practicaba sati (propia incineración en la pira funeraria de su marido)<sup>6</sup> se vestía con una túnica coloreada de amarillo con cúrcuma.<sup>8</sup>

La aplicación de cúrcuma sobre el cuerpo de una persona fallecida se realizaba para purificar y limpiar el cuerpo.<sup>6</sup>

En 1870 descubrieron que la raíz de la cúrcuma se volvía de color marrón rojizo cuando era expuesta a productos químicos alcalinos, y empezó a ser utilizada. Fue en 1920 en Alemania donde se descubrió los primeros potenciales de la cúrcuma al aislar en el aceite esencial unos sesquiterpenos a los que se les atribuyó cierta actividad terapéutica.<sup>4</sup> Los curcuminoides se aislaron inicialmente en 1815. La estructura química de la curcumina (C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>) fue descrita y sintetizada en 1910 por el químico polaco Víctor Lampe.<sup>8</sup>

### **2.2.1.3 Descripción Botánica**

La cúrcuma es un rizoma perenne con raíces oblongas palmeadas (5), son tubérculos arrugados por el exterior y son de color marrón y naranja intenso en su interior,<sup>5</sup> mide 2 metros de alto aproximadamente. Sus hojas son delgadas y alternas de forma lanceolada y tiene peciolo largos, de 55 – 75 cm aprox. y son de color verde,<sup>6</sup> cuando esta florece, Las flores pueden ser de distintos colores según las diversidades, amarillo, púrpura, amarillo claro, etc.<sup>7</sup>

Su inflorescencia es color rosa, siendo más intenso en la parte superior terminal. La planta se reproduce por esquejes a partir del rizoma, No existen formación de semillas.<sup>5</sup>

Los órganos subterráneos están conformados por los rizomas y por raíces adventicias cilíndricas,<sup>6</sup> los rizomas son carnosos y con muchas ramificaciones horizontales, que dan la apariencia de “dedos” de color mostaza.<sup>6</sup> En la parte inferior se encuentran el sistema radicular adventicio que cumple la función de nutrición de la planta.<sup>6</sup> Es por el rizoma que la cúrcuma es una planta totalmente interesante para la gastronomía, así como a nivel medicinal, alimentario y cosmético.<sup>5</sup>

### **2.2.1.4 Distribución y hábitat**

La Cúrcuma se encuentra ampliamente distribuida en la India y en gran parte de Asia,<sup>6</sup> crece de 1 – 1,200 msnm,<sup>7</sup> es una planta tropical, que crece en zonas cálidas y húmedas,<sup>5</sup> se cultiva en forma comercial en India, Bengala, China, Ceilán, Indonesia, Taiwán, Nigeria, Pakistán, Vietnam, Perú, Haití, Jamaica y Costa Rica. También en Alta Verapaz, Izabal, El Quiché, Retalhuleu y Suchitepéquez.<sup>7</sup> Se cultiva muy bien en zonas de selva alta y selva baja, necesita temperatura de 20°C, la cúrcuma crece mejor en campos abiertos donde hay mucha iluminación y suelo fértil para crecer y tierras con un pH ligeramente ácido.<sup>5</sup>

### **2.2.1.5 Composición:**

La cúrcuma es una planta baja en calorías, y en grasas, fundamentalmente compuesta por carbohidratos, tiene una alta proporción de minerales como potasio, fósforo y magnesio, siendo una buena fuente de vitaminas C y E. Sus propiedades medicinales se atribuyen a la bioactividad de sus componentes que son producidos en las rutas del metabolismo secundario: compuestos fenólicos y aceites volátiles.<sup>5</sup>

Los constituyentes químicos primarios de la cúrcuma son curcumina, aceites esenciales, alcaloides y proteínas. El principal constituyente activo es la curcumina, que constituye del 2 al 5 % de la especia.<sup>8</sup>

Los compuestos fenólicos que presenta son del grupo de los curcuminoides, derivados diarilmetálicos que son responsables del color amarillo anaranjado de la cúrcuma.<sup>5</sup> Los curcuminoides presentes son el 2-9% de la planta,<sup>8</sup> siendo los más usados comercialmente el diferuloilmetano (curcumina I), demetoxicurcumina (curcumina II), bisdemetoxicurcumina (curcumina III) en un 3%, y la recientemente descubierta ciclocurcumina. El curcuminóide más importante es la curcumina, que se obtuvo por primera vez por síntesis en el laboratorio de S. Kostanecki en Berna en 1913.<sup>5</sup>

El rizoma de cúrcuma contiene; aceite esencial, almidón (entre un 30 y 40%), resina, goma, aceite graso, oxalato de calcio. La curcumina es inestable a pH básico, y ocurre una degradación muy lenta a pH entre 1 y 6.5 aprox. El aceite esencial es de color amarillo-anaranjado, se haya en el parénquima cortical y en su composición están el felandreno, sabineno, cineo, turmerol.<sup>9</sup>

#### **2.2.1.6 Composición Nutricional**

Palillo (*Cúrcuma longa L.*): 100g que equivalen a una ración por persona. Agua 12.85mg, energía 312mg, proteínas 9.68mg, lípidos 3.25mg, carbohidratos 67.14mg, minerales como: Calcio, Ca 168mg, Hierro, Fe 55mg, Magnesio, Mg 208mg, Fósforo 299mg, Potasio, K 2080mg, Sodio, Na 27mg, Zinc, Zn 1.50mg, vitaminas como: Vit C (ac. ascórbico) 0.7mg, Tiamina 0.058mg, Riboflavina 0.150mg, Niacina 1.350mg, Vit B6 0.107mg, Vit D (D2 + D3)4.43mg, vit. K 13.4mg, lípidos como: Ac. grasos saturados, total 1.38g, Ac. Grasos monoinsaturados, total 0.449g, Ac. Grasos poliinsaturados, total 0.756g, Ac.grasos trans total 0.056g.<sup>5</sup>

#### **2.2.1.7 Propiedades farmacológicas:**

El rizoma de la cúrcuma ha sido usada en medicina tradicional (China, Hindú y Ayurvédica) utilizada para aliviar problemas digestivos, también la usaron como un antiinflamatorio y como cicatrizante. Los responsables de la bioactividad de la cúrcuma son los curcuminoides, especialmente la curcumina y compuestos fenólicos,<sup>6</sup> la curcumina tiene efectos medicinales estudiados científicamente, para la inflamación en artritis reumatoide, para prevenir la arteriosclerosis, efectos hepatoprotector, desordenes gastrointestinales, para psoriasis o eczemas, y capacidad antioxidante.<sup>6</sup>



También se ha utilizado para afecciones gastrointestinales como purificador de la sangre, estimulando la función renal, la pasta de rizoma de cúrcuma ha sido usada para curación de heridas, cortes, y prurito.<sup>7</sup>

Actualmente la cúrcuma es muy utilizada por la población por su actividad antiinflamatoria (en el tratamiento de afecciones reumáticas, por la curcumina que es uno de sus principales componentes), también es muy usada como antioxidante, por la oleorresina y su aceite esencial. En Asia es muy empleada como digestivo después de comidas altas en grasa y también como tratamiento en úlceras gastroduodenales; utilizada en aplicación tópica en úlceras de la piel como la escabiosis, y como antimicótico. También se utiliza para tratar el Alzheimer, asma bronquial, hepatitis, hipertensión arterial, ayuda a reducir edemas y hematoma.<sup>24</sup>

Hoy en día la Cúrcuma tiene también otros usos en la industria alimentaria como colorante para comidas por su componente la curcumina, así también en la fabricación de cosméticos, pinturas, ceras en trabajo de artesanía.<sup>24</sup>

## **2.2.2 Kion (*Zingiber officinale roscoe*)**

### **2.2.2.1 Clasificación Taxonómica**

División : Magnoliophyta  
Sub clase: Zingiberidae  
Orden : Zingiberales  
Familia : Zingiberaceae  
Género : *Zingiber*  
Especie : *Zingiber officinale Roscoe*

### **2.2.2.2 Historia**

El Jengibre es una planta originaria de las zonas tropicales del sureste de Asia, India y China.<sup>10</sup> en la actualidad es una especie cultivada en casi todos los países Tropicales.<sup>12</sup>

Las variedades más costosas del mundo crecen en Australia, Indonesia y Jamaica, pero las que más se venden son las que se cultivan en China.<sup>10</sup> “El nombre original *sringaveraes* un vocablo sánscrito (que significa en forma de cuerno) que pasó al persa como *dzungebiry* a su vez al griego como *dzigibris*,

en latín se convirtió en *Zingiber* pero en español como jengibre.<sup>11</sup> En 1979 Grieve dice que el Jengibre se naturalizó en América Central y el Caribe a inicios de siglo XVI cuando fueron traídos de la Indias Orientales por los españoles y se comenzó a cultivar.<sup>13</sup>

### **2.2.2.3 Descripción Botánica:**

El Jengibre es una planta herbácea tiene su origen en las zonas tropicales del sureste asiático.<sup>11</sup> Su rizoma es perenne, nudoso y tuberoso, con una corteza de color amarillento y rugosidades transversas, de sabor picante y profundamente aromático.<sup>10</sup>

El Jengibre puede llegar a crecer hasta un metro de altura, esto si se cultiva en zonas con mucha sombra,<sup>11</sup> se cosecha a partir de los 9 o 10 meses.<sup>10</sup>

Las hojas brotan del rizoma y tienen un aroma muy agradable; sus hojas son alternas, lanceoladas, estrechas, lineales y agudas miden de 6-10 cm de longitud y 2 cm de ancho.<sup>10</sup> Las inflorescencias nacen del tallo floral, y son inflorescencias terminales. Sus flores son irregulares, se agrupan en espigas sus flores son pequeñas y de color amarillento.<sup>13</sup>

### **2.2.2.4 Distribución y hábitat**

El jengibre crece en todas las regiones tropicales del mundo, su nombre proviene del antiquísimo idioma indoeuropeo, que derivó de los idiomas europeos y en los índicos<sup>12</sup> y es una de las plantas medicinales de mayor consumo en el mundo.<sup>13</sup>

El factor climático es un requisito fundamental para obtener un rizoma de calidad como lo exigen los mercados de exportación,<sup>12</sup> la temperatura ideal para su cultivo es entre 25 y 30°C, con precipitaciones anuales que alcancen un mínimo de 2000 y hasta los 4000 msnm, en temporadas de sequía esta planta no resiste.<sup>11</sup> Las variedades de mayor calidad y altos precios por lo general proceden de Australia, India y Jamaica, y las más comercializadas se cultivan en China y Perú.<sup>12</sup>

Se sabe que en el Ecuador existen más de 100 hectáreas destinadas a este cultivo y que el área destinada para su siembra aumenta debido a su demanda.<sup>11</sup> En el Perú tenemos como ventaja nuestro clima que nos permite el cultivo del Jengibre durante todos los meses del año.<sup>1</sup>

### 2.2.2.5. Composición Química

El jengibre está compuesto por carbohidratos (50-70 %), lípidos (6-8 %),<sup>1</sup> contiene también un (4-7,5%) de oleorresina, de esta destacan el aceite esencial y las sustancias picantes, el aceite esencial (1,5-3% de la droga) su composición es variable según la procedencia.<sup>11</sup>

Los componentes más importantes farmacológicamente son los terpenos<sup>1</sup> como los sesquiterpenos, como  $\alpha$ -zingibereno,  $\alpha$ -curcumeno,  $\beta$ -bisaboleno,  $\beta$ -bisabolona, (EE)-  $\alpha$ -farneseno y  $\beta$ -sesquifelandreno, y monoterpenos, como alcanfor,  $\beta$ -felendreno, geranial, neral y linalol.<sup>4</sup> “En 1975 se puso de manifiesto que el  $\beta$ -sesquifelandreno y el  $\alpha$ -curcumeno son los responsables del aroma a jengibre, mientras que el  $\alpha$ -terpineol y el citral causan el aroma a limón”, según un estudio organoléptico.<sup>12</sup>

Las sustancias picantes son los gingeroles y los sogaos. Se trata de fenilalcanonas o fenilalcanonoles con cadenas de diferentes longitudes, y no volátiles, las más importantes son el [6]-gingerol y el [6]-sogaol.<sup>11</sup>

Dentro de sus componentes, el rizoma también contiene diarilheptanoide, difenilheptenonas, difenilheptanoles, difenilheptanodiolos y sus acetatos.<sup>11</sup>

El almidón también forma parte de su composición (aproximadamente un 50%), diterpenos, ácido 6-gingesulfónico y monoacildigalactosil glicerol.<sup>11</sup>

En un estudio realizado en Japón *in vitro* muestra que el jengibre tiene actividad antimicrobiana e incrementa la excreción de colesterol, y produce un decrecimiento en niveles de glucosa en la sangre, teniendo también propiedades antioxidantes.<sup>4</sup>

“Algunos de los componentes de la oleorresina de jengibre han mostrado un potente efecto inhibitor de la síntesis de prostaglandinas *in vitro*, además inhibe la agregación plaquetaria. Los gingeroles son antioxidantes y, al inhibir la lipooxigenasa y la ciclooxigenasa, son potencialmente antiinflamatorios. Ensayos recientes han demostrado los efectos antitumorales y antiproliferativos de dos compuestos picantes que se encuentran en el jengibre: el 6-gingerol y el 6-paradol. Su actividad antiemética en las náuseas originadas en el tratamiento quimioterápico ha sido comprobada en perros y ratas.

### 2.2.2.6 Composición nutricional del kion (*Zingiber officinale roscoe*)

Tabla N° 1: Composición nutricional

Componentes	Contenido de 100 g de parte comestible	Valores (basado en una dieta de 2000 calorías)
Calorías	47	
Carbohidratos	9 g	300 g
Cenizas	1 g	
Fibra	0.90 g	25 g
Grasa total	1.60 g	66 g
Ácido ascórbico	2 mg	60 mg
Calcio	44 mg	162 mg
Fósforo	66 mg	125 mg
Hierro	1.8 mg	18 mg
Niacina	0.7 mg	20 mg
Riboflavina	0.06 mg	1.7 mg
Tiamina	0.02 mg	

Fuente: "National Nutrient Database for Standard Reference"<sup>5</sup>

### 2.2.2.7. Propiedades farmacológicas

Se ha comprobado en investigaciones médicas que la raíz de jengibre es efectiva como antiemético causado por los mareos en medios de transporte, las que provoca el embarazo.<sup>12</sup> El jengibre es útil para gastritis leves no solo puede aliviar los síntomas de inflamación, también protege la creación de úlceras digestivas y estimulación de la digestión, apoyo prebiótico de la flora intestinal, propiedades antidiarreicas y protección del hígado.<sup>4</sup>

Los investigadores japoneses han demostrado que el extracto de jengibre tiene efectos anti-tumores en la piel, colocándola directamente. También se ha encontrado que el jengibre es efectivo contra el crecimiento de *Escherichia coli*, *Protus Vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* y *streptococcus viridans*.<sup>4</sup>

El rizoma seco se utiliza en el tratamiento de dolores abdominales, lumbago y diarrea. El rizoma fresco se usa contra vómito, tos, distensión abdominal y pirexia.<sup>11</sup>

### **2.2.3 *Staphylococcus aureus***

#### **2.2.3.1 Definición**

Es un microorganismo con gran relevancia en el ámbito clínico, debido a la frecuencia con que se presentan infecciones, a causa de esta bacteria, en el ser humano. Pertenece al género *Staphylococcus* de la familia *Staphylococcaceae*.<sup>26</sup>

#### **2.2.3.2 Características Morfológicas**

Las especies de este género son cocos Gram positivos, cuyo diámetro suele encontrarse entre 0,5 y 1,5µm, no son móviles, pueden ser aerobios o anaerobios facultativos. En el género *Staphylococcus* se encuentran más de 30 especies, poseen la capacidad de liberar el oxígeno y el agua que componen el peróxido de hidrógeno, gracias a su enzima catalasa y *Staphylococcus aureus* es una de las más infecciosas en comparación al resto de especies.<sup>26</sup>

*Staphylococcus aureus* posee en su pared celular una capa de peptidoglicano, cuyo objetivo es proteger la pared bacteriana y mantener los mecanismos de osmosis celular. Otro componente presente en la pared celular en un 40% son los ácidos teicoicos. Algunas cepas poseen también una cápsula que le confiere propiedades fagocíticas.<sup>27</sup>

#### **2.2.3.3 Epidemiología**

Se dice que “entre 20 y 50% de la población mundial es portadora de *S. aureus* en fosas nasales y 30% de forma permanente en piel y tracto gastrointestinal”.<sup>3</sup> Es esta capacidad para formar parte de la microflora humana, lo que hace a esta bacteria tan infecciosa, siendo más frecuente la aparición de infecciones en el ámbito hospitalario en pacientes sometidos a diversos tratamientos como son hemodiálisis, tratamientos para lesiones cutáneas, adictos a drogas, etc.<sup>31</sup>

Es importante resaltar que, en la actualidad, las infecciones debido a esta bacteria han surgido en mayor número debido a la resistencia que ofrece a antibióticos como la meticilina, haciendo más difícil su erradicación. De hecho,

el *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina es considerado uno de los patógenos más importantes en el ámbito intrahospitalario a nivel mundial<sup>28</sup>.

#### **2.2.3.4 Factores de virulencia**

*Staphylococcus aureus* posee una gran capacidad para infectar a los seres humanos y ello se debe a la gran variedad de proteínas (enzimas y citotoxinas) que produce y que le facilitan la degradación de los tejidos del paciente para nutrirse a base de ellos. Estos factores se encuentran clasificados en 3 categorías<sup>31</sup>:

- a) Aquellos involucrados en la adherencia a las células huésped.
- b) Los involucrados en evitar a las defensas del huésped.
- c) Los involucrados en la invasión a las células y penetración en los tejidos del huésped.<sup>31</sup>

#### **2.2.3.5 Patogenia**

El desarrollo de la enfermedad ocurre por la combinación de los factores de virulencia y la disminución o depresión del sistema inmunológico del huésped.<sup>31</sup> Esta bacteria puede ocasionar infecciones de dos maneras:

- a) Al invadir y destruir tejidos locales, así como al diseminarse a través del torrente sanguíneo, este mecanismo puede producirse tanto por cepas residentes en el huésped como no residentes. Se produce entonces la colonización de las células y posteriormente, al ingresar a las capas más profundas de la piel y mucosas, se producen los abscesos que ocasionarán la respuesta inflamatoria en el huésped.<sup>31</sup>
- b) A través de los efectos que producen las toxinas que segrega en el medio ambiente, las cuales ejercen su acción a distancia. Por ejemplo: Intoxicaciones alimentarias y Síndrome de piel escaldada.<sup>31</sup>

#### **2.2.3.6. Diagnóstico**

El diagnóstico de la infección por *S. aureus* se fundamenta en la evaluación clínica y análisis microbiológico, para lo cual se realiza el aislamiento e identificación de la cepa. Se toman muestras de sangre, aspiradas de abscesos, tejidos, etc.<sup>30-31</sup>

### 2.2.3.7. Medios de aislamiento

Luego de la incubación entre 18 a 24 horas, las cepas de *S. aureus* pueden visualizarse en medios de cultivo con una forma lisa, brillante, de color amarillo o dorado, al ser colocadas en agar sangre producen la hemólisis total alrededor de las colonias.<sup>30</sup>

### 2.2.3.8. Identificación

La prueba más utilizada es la de la coagulasa, también se identifica mediante tinción Gram, prueba de la catalasa, fermentación de glucosa, es posible también emplear técnicas moleculares de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y PCR en tiempo real, las cuales no solo permiten detectar al agente etiológico causante de la infección, sino también la resistencia a los antimicrobianos propios de cada cepa.<sup>28-31</sup>

### 2.2.3.9. Resistencia antimicrobiana

*Staphylococcus aureus* fue el primer microorganismo en poner de manifiesto la resistencia a los antimicrobianos y ser capaz de desarrollar múltiples mecanismos, intrínsecos o adquiridos, que le han ido confiriendo resistencia a la mayoría de los antimicrobianos<sup>28</sup>.

#### **Resistencia a Penicilina:**

Se produjo a fines de los años 50 y comienzos de los 60, en la actualidad el 90% de las cepas de esta especie son resistentes a penicilina. El mecanismo de acción de esta resistencia esta mediado por la acción de las enzimas beta-lactamasas que hidrolizan al anillo beta-lactamico del antibiotico provocando su inactivación.<sup>28</sup>

#### **Resistencia a Meticilina:**

Este medicamento surgió como alternativa de tratamiento para aquellas infecciones penicilino-resistentes. *Staphylococcus aureus* se volvió resistente a meticilina casi de inmediato y este medicamento dejó de ser utilizado en la práctica clínica debido a su alta toxicidad renal; sin embargo, continúa utilizándose como punto de referencia para descartar otros antibióticos, puesto que las cepas resistentes a meticilina son también resistentes a dicloxacilina, cefalosporinas de 1ra y 2da generación, carbapenémicos, etc.<sup>28</sup>

### **Resistencia a Vancomicina:**

Este antibiótico, del grupo de los glucopéptidos ha sido durante cuarenta años el antibiótico de elección frente a cepas resistentes a meticilina; sin embargo, este uso prolongado dio como resultado la aparición de cepas resistentes a vancomicina. Su mecanismo de resistencia se relaciona con la síntesis de peptidoglicano en grandes cantidades en la pared celular de la célula, lo cual facilitará la unión de las moléculas de vancomicina con los residuos provenientes de la bacteria, impidiendo así que estas moléculas alcancen sus células diana.<sup>28</sup>

### **Resistencia a Mupirocina:**

Esta resistencia no es muy frecuente aún y se caracteriza por la modificación de la diana, la cual puede ser de alto nivel (mediada por un plásmido que lleva el gen responsable) o de bajo nivel (cuyo origen es cromosómico).<sup>28</sup>

## **2.2.4 METODO DE MACRODILUCION**

Este método ha sido utilizado durante años. Los procedimientos iniciales eran realizados en tubos de ensayo con volúmenes de caldo de por lo menos 1 ml. Este método fue normalizado en la década de los años 70 por el Estudio Cooperativo Internacional y luego la National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), el cual anunció un estándar del método. Este método es llamado macrodilución el cual nos permite evaluar la CMI (concentración mínima inhibitoria) en caldo. Esta miniaturización simple de la técnica se conoció como macrodilución en caldo.

Fundamento de este método Consiste en poner las sustancias en estudio en diferentes concentraciones y observar el crecimiento de los microorganismos para luego definir la CMI (Concentración mínima inhibitoria).

**Tabla N°2: Categoría de interpretación de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos**

<b>ESTÁNDARES INTERPRETATIVOS (mg/ml)</b>	
<b>ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA</b>	<b>CIM</b>
<b>SENSIBLE</b>	≤ 4mg/ml
<b>INTERMEDIO</b>	8mg/ml
<b>RESISTENTE</b>	≥ 16mg/ml

Fuente: Clinical and Laboratory Standards Institute. NLSI-2013



## 2.2.5 METABOLITOS SECUNDARIOS

Las rutas metabólicas constiyuyen los orígenes de los metabolitos secundarios presentes en las plantas, el cual da una gran variedad de compuestos que son responsables del olor, color, sabor, efectos farmacológicos o tóxicos y culinarios.<sup>49</sup> Los más importantes son:

### 2.2.5.1 ISOPRENOIDES:

Se forman a través de la ruta del ácido mevalónico a partir de la AcetilCoA, en donde se incorpora unidades de C5, tienen estructuras diversas y pueden encontrarse como tal o formando parte de compuestos más complejos y se clasifican en:

**Terpenos:** Los elementos estructurales básicos de los terpenos se conocen como unidades de isopreno, porque los terpenos pueden descomponerse a elevadas temperaturas dando isopreno.<sup>49</sup>

**Aceites esenciales:** Los aceites esenciales son sustancias volátiles de naturaleza compleja, con frecuencia están asociadas a gomas y a resinas. Estas esencias se encuentran exclusivamente en vegetales superiores. Muchos aceites esenciales son de origen terpenoide, solo un pequeño número de ellos contienen derivados aromáticos (bencénicos) mezclados con terpenos.<sup>50</sup>

**Saponinas:** Son estructuras formadas por una parte glusídica y una parte no glusídica (aglicón) y su nombre se debe a sus propiedades jabonosas.<sup>49</sup>

**Heterósidos cardiotónicos:** Están formados por una parte glusídica constituida por una o varias unidades de azúcar y un aglicón que tiene un núcleo esteroídico (C27 tetracíclico) unido a un anillo lactónico insaturado.<sup>49</sup>

### 2.2.5.2 ALCALOIDES

Los alcaloides típicos son de origen vegetal, contienen uno o más átomos de nitrógeno (generalmente en anillo heterocíclico), son de mayor interés en la farmacognosia. Dentro de este grupo se encuentran sustancias tóxicas incluso a bajas dosis. El primer alcaloide aislado fue la morfina, en 1819 se le dio el nombre de alcaloide debido a su naturaleza básica y su gran complejidad, aunque comenzaron a aislarse en el siglo XIX, la determinación de su estructura fue posterior.<sup>50</sup>

Drogas con alcaloides derivados del tropano: Son sustancias para simpaticomiméticas o antagonistas de la acetil colina (transmisora del impulso nervioso) como la cocaína, cafeína, daturina.

Drogas con alcaloides derivados de la quinoleína (Quinina): la droga es la corteza desecada de tronco, rama y raíces de *Cinchona spp.* (Rubiáceas), su principal acción es la antimalárica debido a la quinina, que es un tóxico para protozoos y paramecios y en particular para el género plasmodium productores del paludismo.

Drogas con alcaloides derivados de la isoquinoleína (Opio), látex desecado que se obtiene por incisión de capsulas inmaduras de las distintas variedades de *Papaver somniferum* (*papaveraceas*), del que se obtiene la morfina, es analgésico incluso en bajas dosis, deprime la percepción dolorosa, extremadamente útil en dolores fuertes y persistentes.<sup>50</sup>

### 2.2.5.3 DERIVADOS FENOLICOS

Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo hidroxilo en un anillo aromático, que les confiere una estructura fenólica. Existen dos rutas básicas implicadas en su biosíntesis, la ruta del acetato que conduce a la formación de cadenas policíclicas que mediante ciclación, dan lugar a compuestos policíclicos aromáticos y la ruta del ácido shikímico que es precursor de una serie de ácidos benzoicos hidroxilados y aminados. En la mayoría de los casos los compuestos aromáticos provienen de ésta ruta y suelen formarse por desaminación de aminoácidos aromáticos, entre los compuestos fenólicos más importantes tenemos: fenoles simples, ácidos fenólicos, taninos, cumarinas, lignanos, quinonas, flavonoides: antocianinas.<sup>49</sup>

**Fenoles simples:** Son poco frecuentes y se encuentran en las plantas en forma de heterósidos.

**Ácidos fenólicos:** Se pueden encontrar libres o unidos a azúcares (heterósidos), pueden formar ésteres al unirse tanto con el ácido quínico como con otro ácido fenólico.

**Taninos:** Los taninos poseen un amplio grupo de compuestos hidrosolubles con estructura polifenólica.

**Cumarinas:** Las cumarinas son derivados de la benzo- $\alpha$ -pirona, muchas de ellas son fenólicas, por lo que se incluyen dentro de los derivados fenólicos.

**Lignanós:** Los lignanos son compuestos que poseen una estructura constituida por dos unidades de fenilpropano.

**Quinonas:** Son compuestos aromáticos con dos grupos cetona, son dicetonas insaturadas que por reducción se convierten en polifenoles.

**Flavonoides:** Los flavonoides constituyen un grupo amplio de fenoles naturales, se encuentran tanto como agliconas libres o en forma de heterósidos. En la actualidad se conocen más de 2000 de estos compuestos, de los cuales unos 500 se encuentran en estado libre. Los flavonoides proceden del metabolismo secundario de los vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y policétidos. Están ampliamente distribuidos en las plantas superiores, sobre todo en las partes aéreas: hojas, flores, frutose origen vegetal, contienen uno o más átomos de nitrógeno (generalmente en anillo heterocíclico).<sup>50</sup>

## 2.2.6 EXTRACCIÓN

Para realizar la elaboración de productos utilizando especies vegetales se debe tomar en consideración que existen muchos métodos para extraer los principios activos contenidos en la especie vegetal, los que necesitan de un líquido extractivo que va a depender del tipo de técnica de extracción y de la composición química del principio activo.<sup>49</sup>

### 2.2.6.1 TIPOS DE EXTRACCIÓN:

**Percolación:** Es el método más usado de extracción, esta descrito en la Farmacopea Americana, este método es generalmente alcohólico o mezcla hidroalcohólica atraviesa la masa de droga pulverizada siempre en un solo sentido, alcanzando concentraciones crecientes de manera que el equilibrio entre el solvente dentro y fuera del marco nunca se alcanza. Éste metodo de extracción se lleva a cabo en recipientes cilíndricos llamados percoladores que tienen dispositivos de carga y descarga, lográndose una extracción total de los principios activos del 95% de sustancias extraíbles aproximadamente; teniendo en cuenta que el tiempo en el que la droga permanece en contacto con el menstruo y la relación existente entre la droga y el líquido extractivo (cantidad de disolvente), son dos factores decisivos dentro de la percolación. <sup>49</sup>

**Maceración:** Es el método en el que hay contacto prolongado durante cierto tiempo de la droga vegetal con el solvente elegido constituyendo un conjunto

homogéneamente mezclado en el cual el solvente actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la droga, circulando a través en todas las direcciones y sentidos disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio. Es el método de extracción más sencilla, debe agitarse continuamente y protegerse de la luz para evitar alteraciones.<sup>49</sup>

**Decocción:** Método también llamado cocimiento, este procedimiento consiste en llevar a la mezcla la droga vegetal con el solvente a una temperatura de ebullición del agua, manteniendo una temperatura en un período variable de 15 a 30 minutos.<sup>49</sup>

**Infusión:** Es el proceso en cual se coloca a la droga vegetal antes humedecida en contacto con el solvente a una temperatura igual a la de ebullición del agua por cinco minutos, después se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se prepara al 5%.<sup>49</sup>

### 2.2.7 EXTRACTOS

Los extractos son preparados concentrados que pueden tener consistencia sólida, líquida o intermedia, derivados generalmente de especies vegetales desecado, estos extractos se obtienen al evaporar parcial o totalmente el disolvente en los líquidos extractivos de especie vegetal. Los extractos se clasifican en: (según su consistencia y concentración de principio activo)<sup>50</sup>

**Extractos Fluidos:** Son extractos de drogas que tienen una concentración prescrita de etanol, están preparados de forma que una parte de droga corresponde a una parte o dos partes del extracto fluido; teniendo en cuenta que 85 partes de droga seca corresponden a 100 partes de planta fresca. Por lo general los extractos fluidos se obtienen por percolación.<sup>50</sup>

**Extractos Secos:** Son aquellos que tienen una consistencia seca, se obtienen por evaporación del disolvente y desecación del residuo. Un extracto seco no debe presentar un contenido de humedad que sobre pase del 5%. Presentan una concentración muy superior de principio activo que la droga original, son preparados bastante estables (aunque en ocasiones resultan higroscópicos) y de fácil manipulación; como líquido extractor se utiliza alcohol de diversa concentración y agua.<sup>50</sup>

**Extractos Blandos:** Son aquellos que poseen una concentración de principio activo superior a la de la droga original y de consistencia semisólida. El disolvente suele ser agua o mezclas hidroalcohólicas. Estos extractos blandos son poco estables y resultan difíciles de manipular; por lo que se utilizan muy poco.<sup>50</sup>

**Crioextractos:** Son aquellos que se obtiene por molturación de la droga vegetal correctamente desecada y sometida a condiciones de congelación (-196°C), utilizando la inyección de nitrógeno líquido, de manera que los principios activos no se ven alterados por la acción del calor desprendido en un proceso de molturación y que dependiendo de la droga vegetal, puede llegar a ser hasta 70°C. Los crioextractos son muy caros, pero muy útiles para la obtención de proteínas y enzimas de ciertas especies.<sup>50</sup>

## 2.3 FORMULACION DE HIPÓTESIS

### 2.3.1 HIPÓTESIS GENERAL

Existe 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*.

### 2.3.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

1. Existen tipos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo).
2. Existe 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* mediante el método de macrodilución.
3. Existe una concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

## 2.4 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES E INDICADORES

Tabla N°3: Operacionalización de variables

VARIABLE		DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR
INDEPENDIENTE	Extracto etanólico de <i>Zingiber officinale</i> (Kion) y <i>Cúrcuma longa</i> L.(Palillo)	Sustancia obtenida a partir de una maceración en alcohol de 96°.	Se medirá según la concentración utilizada	Metabolitos secundarios Concentraciones del extracto etanólico P/V
	Efecto antibacteriano	Capacidad de la sustancia para inhibir el crecimiento de Cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> .	Sensibilidad bacteriana frente al extracto vegetal en estudio.	Concentración mínima inhibitoria (CMI) Turbidez

Fuente: Elaboración propia

## 2.5 DEFINICIÓN DE TERMINOS BÁSICOS

- ***Staphylococcus aureus***: Es considerada como una bacteria que causa infecciones frecuentes y por lo general es el patógenos de importancia clínica para el ser humano.<sup>13</sup>
- **Cúrcuma**: Planta que pertenece a la Familia Zingiberaceae originaria del sudeste asiático. Muy reconocida como especia aromática, ya que es común su uso en la gastronomía y tiene importantes propiedades medicinales.<sup>8</sup>
- **Jengibre**: Planta tropical, pertenece a la Familia *Zingiberaceae* en hoy en día es una especie cultivada en casi todos los países Tropicales e incluso en nuestro país ya que es reconocida por sus amplias propiedades medicinales.<sup>1</sup>

- **Antimicrobiano:** Aquel medicamento que destruye a los microorganismos e inhibe su desarrollo y crecimiento. Estos fármacos, están clasificados en antibacterianos, antivirales, antimicóticos, antiparasitarios y antirretrovirales.<sup>15</sup>
- **Farmacoresistencia:** Los antibióticos son fármacos que son utilizados para tratar o prevenir infecciones bacterianas. La resistencia a los antibióticos se produce cuando las bacterias mutan en respuesta al uso de estos fármacos y por ello se tiene que usar la nueva infección con un antibiótico mucho más fuerte no resistente.<sup>16</sup>
- **Gentamicina:** Pertenece a familia de los amino glucósido que se utilizan para tratar infecciones causadas por bacterias gram negativas y que estas sustancias inhiben la multiplicación de los bacilos gram negativos y gram positivos, tanto in vitro como in vivo.<sup>42</sup>
- **In vitro:** Es una Técnica utilizada para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación in vitro es un ejemplo ampliamente conocido.<sup>43</sup>
- **Cultivos:** Es un método para la multiplicación de microorganismos, tales como lo son bacterias en el que se prepara un medio bueno y óptimo para favorecer el proceso deseado. Un cultivo es un método fundamental para el estudio de las bacterias y otros microorganismos que causan enfermedades en medicina humana y veterinaria. Son muy utilizados en biología, bacteriología y específicamente en microbiología.<sup>44</sup>
- **Microbiología:** Es la ciencia encargada del estudio y análisis de los microorganismos, es el estudio de seres vivos pequeños no visibles al ojo humano conocidos como microbios.<sup>45</sup>
- **Halo de inhibición:** Es la zona alrededor de un disco de antibiótico en un antibiograma en el que no se produce crecimiento bacteriano en una placa de agar inoculada con el germen, Con ello se mide la potencia del antibiótico frente al germen.<sup>47</sup>
- **Agar:** Polímero sulfatado complejo de unidades de galactosa, extraído del *Gelidium cartilagineum*, *Gracilaria confervoides* y otras algas rojas asociadas. Se usa en

forma de gel en la preparación de medios de cultivo sólidos para microorganismos, como laxante, para la elaboración de emulsiones y como medio de soporte para la inmuno difusión y la inmuno electroforesis.<sup>45</sup>

- **Bacterias Gram Positivas:** Las bacterias Gram positivas se tiñen de color purpura con la tinción Gram ya que el colorante queda atrapado en la capa de peptidoglucano (una estructura entrecruzada y gruesa que tiene forma de malla y rodea a la célula).<sup>31</sup>
- **Bacterias Gram Negativas:** Las bacterias Gram Negativas presentan una capa de peptidoglucano incapaz de retener el colorante cristal violeta, por lo que las células se tiñen con el colorante de contraste (safranina) y adquieren un color rojo.<sup>31</sup>
- **Cepa:** Una cepa es un conjunto de células homogéneas, o clones, que deriva de la reproducción de una célula inicial única, seleccionada y aislada. También suele referirse a las cepas como colonias puras de bacterias.<sup>31</sup>



## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1 TIPO Y NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Según las características y al alcance de los resultados, es un estudio de tipo:

- **Experimental:** Debido a la introducción y manipulación de los extractos para la determinación del efecto antibacteriano, ya que se cuenta con un grupo control positivo constituido por la gentamicina y grupo experimental representado por el extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe (Kion)* y *Cúrcuma longa L. (Palillo)*
- **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 con una aproximación de 24 horas después de realizado el cultivo.
- **In vitro:** Debido a que la investigación se lleva a cabo en medios de cultivo que sirven para el desarrollo de las bacterias y se manipulara de manera intencional las condiciones de la investigación.
- **Analítico:** Debido a que nos permite analizar los metabolitos secundarios que presentan los extractos y como estos influyen en la acción antibacteriana.
- **Descriptivo:** Debido a que nos permite describir los resultados obtenidos en la investigación durante el proceso de elaboración de los ensayos realizados.

#### 3.1.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Se dice que es aplicado debido a que durante el desarrollo del proyecto analizamos y comparamos resultados.

### 3.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACION

La investigación se realizó con un diseño experimental con medios de cultivo, cepas biológicamente activas y especies botánicas con actividad terapéutica.

Fueron realizadas en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, entre los meses de Noviembre 2017 y Enero del 2018 con la asesoría del Microbiólogo Dr. Jorge León.

### **3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.3.1. POBLACIÓN**

La población microbiológica está conformada por la bacteria *Staphylococcus aureus*.

La población vegetal está conformada por las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo)

#### **3.3.2. MUESTRA**

La muestra microbiológica está constituida por colonias de *Staphylococcus aureus* el mismo que será empleado para la preparación de la suspensión bacteriana.

### **3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS**

La técnica usada para la recolección de datos es Observacional. Mediante el cual registraremos los datos obtenidos durante el proceso de la investigación en las fichas de recolección de datos, desde la obtención de metabolitos secundarios hasta los resultados finales el cual nos ayudará a evidenciar el objetivo principal de nuestro proyecto.

### **3.5 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS**

Para la recolección y análisis de datos se usó una ficha creada para apuntar los resultados obtenidos durante el proceso experimental para posteriormente ingresar los datos al sistema de Excel y Word 2016 para su procesamiento.

### **3.6 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

#### **3.6.1 Identificación de las muestras en estudio**

La identificación taxonómica de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo) se realizó en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, según el sistema de Clasificación de Cronquist (1988), obteniéndose el documento de Certificación de muestra. (**Anexo 2 y 3**).

#### **3.6.2 Recolección de la muestra vegetal.**

Las muestras de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y la *Cúrcuma longa L.* (Palillo) fueron recolectada en la ciudad de Chanchamayo, provincia de Chanchamayo, departamento de Junín.

### 3.6.3 Obtención del Extracto Etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo)

Se obtuvo por maceración de la muestra con etanol de 96°, durante 7 días. Una vez recolectadas las muestras, se procedió a la limpieza de ambos rizomas con abundante agua destilada para luego trozarlos lo más pequeño posible y ponerlos a secar a temperatura ambiente durante 7 días, luego lo ponemos a la estufa por 48 horas a 40°C para dejarlas libre de humedad, posteriormente procedemos a triturarlos en partículas más pequeñas para su maceración.

Para la extracción de los metabolitos secundarios fueron macerados 250 G de materia prima de *Cúrcuma* en 1 L de etanol y 260 G de Kion en 1 L de etanol en frascos de color ámbar durante 7 días, agitando los frascos todos los días.

Posteriormente el macerado fue filtrado dos veces primero con papel filtro Whatman N° 41 y el segundo filtrado fue realizado con papel Whatman N° 2. La concentración del extracto se ejecutó por eliminación del disolvente a presión reducida en un rotavapor, a una temperatura de 40° C por espacio de 4 horas aproximadamente, posteriormente se dejó secar en la estufa a una temperatura de 40°C durante 24 horas aproximadamente. El producto final que se obtuvo se pesó obteniendo 5.5g de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y 6.3g de *Cúrcuma longa L.* (Palillo) el cual se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar a una temperatura de 2 – 8°C para su conservación y su posterior estudio.

## FLUJOGRAMA PARA EL ESTUDIO DE METABOLITOS SECUNDARIOS



**Figura N°1:** Flujograma para la obtención del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa* L. (Palillo)

### 3.6.4 Análisis fitoquímico de los metabolitos secundarios de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo)

Para realizar el estudio fitoquímico en primer lugar se procedió a realizar la prueba de solubilidad en los siguientes solventes como el agua, etanol 96°, metanol y cloroformo, determinando que presenta mejor solubilidad en etanol 96° y metanol y poco soluble en cloroformo y agua. A continuación ejecutamos el procedimiento para la identificación de metabolitos secundarios según el (Método de Olga Lock Sing de Ugaz: Las Bases de la Fitoquímica.) del extracto etanólico, haciendo uso de reactivos de coloración y precipitación para lo cual colocaremos en cada tubo de ensayo 4 gotas de la muestra y agregamos 2 - 3 gotas de reactivo.

✓ **Identificación de Alcaloides: Ensayo de Mayer.**

Este ensayo se realiza de la misma forma que el ensayo anterior, en 4 gotas de la muestra se agrega 2 gotas de reactivo, al agregar un exceso de reactivo observaremos la presencia de precipitado que va de un color blanco a un crema.

✓ **Identificación de Aminoácidos y Aminas: Ensayo de Ninhidrina.**

Sé tomó 4 gotas de la muestra y se agrega 2gotas de solución al 2% de Ninhidrina en agua, se considera positivo cuando se observa un azul violáceo.

✓ **Identificación de Azúcares Reductores: Ensayo de Fehling.**

Tomamos 4 gotas de la muestra y agregamos 2 gotas de reactivo de Fehling A y Fehling B llevamos a baño de agua durante 5 -10 min. El ensayo se considera positivo si se observa una coloración rojo o aparece precipitado rojo.

✓ **Identificación de cumarinas: Ensayo de Balget.**

Nos permite identificar en una muestra la presencia de compuestos lactónidos, principalmente cumarinas, en 4 gotas de la muestra se agrega 2 gotas del reactivo, se considera un ensayo positivo la aparición de coloración rojizo o precipitado rojo.

✓ **Identificación de glicósidos: Ensayos de Molish.**

Se sabe que en la composición del reactivo de Molish se encuentra el  $\alpha$ -naftol el mismo que usamos al 5% en etanol. Es por eso que en 4 gotas de la muestra se agrega 2 gotas de reactivo, posteriormente adicionamos por la pared del tubo 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La aparición de un anillo violáceo en la interface indica reacción positiva.

✓ **Identificación de glicósidos cardiotónicos: Ensayo de Kedde.**

Tomamos 4 gotas de la muestra se agrega 2 gotas de reactivo, dejamos reposar durante 10 minutos. Se dice que es un ensayo positivo si presenta una coloración violácea persistente durante 1 hora.

✓ **Identificación de flavonoides: Ensayo de Shinoda.**

En el tubo de ensayo colocamos 4 gotas de la muestra y adicionamos 1 limadura de magnesio, agregamos 2 gotas de HCl concentrado, se dice que la reacción es positiva si observamos burbujeos durante la reacción con la limadura y evidenciamos una coloración naranja que cada vez es más intensa.

✓ **Identificación de fenoles y/o taninos: Ensayo de Cloruro Férrico.**

Se toma 4 gotas de la muestra y agregamos 2 gotas de cloruro férrico, si observamos la aparición de un color o precipitado verde oscuro indica la presencia de fenoles y/o taninos entonces diremos que el ensayo es positivo.

✓ **Identificación de mucílagos: Ensayo de mucílagos.**

Permitió reconocer en los extractos vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un alcaloide hidrófilo de alto índice de masa.

Para ello 1ml de la muestra se enfría a 0-5 °C y si la solución toma una consistencia gomosa al tacto el ensayo es positivo.

✓ **Identificación de quinonas: Ensayo de Bornträger**

Para la identificación de dicho ensayo, cogemos 4 gotas de la muestra y agregamos 2 gotas de NaOH 10% y 2 gotas de cloroformo Se agita mezclándolas fases y se deja en reposo hasta la separación. Si la fase acuosa alcalina (superior), se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo.

✓ **Identificación de saponinas: Ensayo de espuma.**

Tomamos 1ml de la muestra y agregamos 2 ml en agua y agitamos la mezcla durante 2 minutos. Se considera positivo si aparece espuma de más de 2 mm de altura en la superficie y persiste por más de 2 minutos.

✓ **Identificación de Triterpenos: Ensayo de Liebermann-Burchard.**

Tomamos 4 gotas de la muestra y agregamos 2 gotas de reactivo, decimos que es un ensayo positivo si observamos un cambio rápido de coloración de verde o azul verdoso.

- ✓ **Identificación de Principios amargos:** Ensayos de principios amargos y astringentes. Este tipo de ensayo se realizó probando el sabor de la muestra diluida en agua una gota del extracto del vegetal y reconociendo el mismo al paladar.
  
- ✓ **Ensayo de catequinas:**  
Tomamos 1 gota de solución alcohólica, con la ayuda de un capilar se aplicara sobre el papel filtro, sobre la mancha se aplica solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV indicara un ensayo positivo.

### **3.6.5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA**

#### **Reactivación de bacterias:**

Para la reactivación de la cepa procedemos a descongelar el tubo que contiene la bacteria a temperatura ambiente durante 2 horas, con la ayuda de un hisopo transportamos parte de la muestra en estudio al tubo de ensayo que contiene caldo nutritivo como medio específico para realizar la reactivación de la bacteria, para luego ponerlo a incubar a una temperatura de 37°C por 24 horas.

#### **Preparación de Placas y Cultivos en agar**

Preparamos el Agar Mueller Hinton según las indicaciones del fabricante, procedemos a calentar hasta obtener una dilución homogénea del agar una vez disuelto procedemos a colocar en la autoclave por espacio de 15 minutos para evitar un posible crecimiento de microorganismos, una vez que obtuvimos el agar estéril procedemos a plaquear y esperamos que solidifique por espacio de 20 min. aprox. posteriormente cogemos el tubo que contiene la bacteria incubada por 24 horas, del cual extraemos con ayuda del asa de henle esterilizado la muestra, para proceder al sembrado por el método de estrías en las placas que contiene agar Mueller Hinton, el cual llevamos a incubar a 37°C durante 24 horas.

#### **Preparacion del inóculo**

Para proceder a preparar el inóculo cogemos las placas sembradas con bacterias, extraemos con el asa de henle de 3 a 4 colonias aisladas. Colocamos en el tubo que contiene 10 ml de cloruro de sodio 0.9%, homogenizamos hasta obtener una turbidez semejante al de la escala 0.5 de Mac. Farland. Comparamos visualmente y con una luz apropiada observamos los tubos contra un fondo blanco con líneas

negras como contraste. La suspensión del inóculo preparado contiene aproximadamente de 1 a  $2 \times 10^8$  UFC/ml. La suspensión bacteriana se preparó agregando en los tubos 9.9 ml de Caldo Mueller Hinton. Luego del tubo que contiene cloruro de sodio 0.9 % que contiene las bacteria en estudio y con una determinada turbidez comparada con el Mac Farland, extraer 0.1 ml del tubo y pasarlo al tubo de la suspensión bacteriana que contienen 9.9 ml de Caldo Mueller Hinton, conteniendo un total de 10 ml cada tubo.

### 3.6.6 PREPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES (MÉTODO DE MACRODILUCIÓN)

- Pesamos 500mg del extracto en un vial estéril, el cual se disuelve en 1 ml de DMSO, para alcanzar una concentración de 500mg/ml (Solución madre o Stock).
- De la solución madre sacamos 75uL y añadimos al tubo N° 01 que contiene 75uL de DMSO.
- Del tubo N° 01 se sacó 75uL para ser añadido al Tubo N° 02 y así sucesivamente hasta llegar al tubo N° 10
- Del tubo N° 10 se sacó 75uL que fue desechado.
- Las concentraciones comprenden los rangos de 37.5mg/ml a 0.073mg/ml.

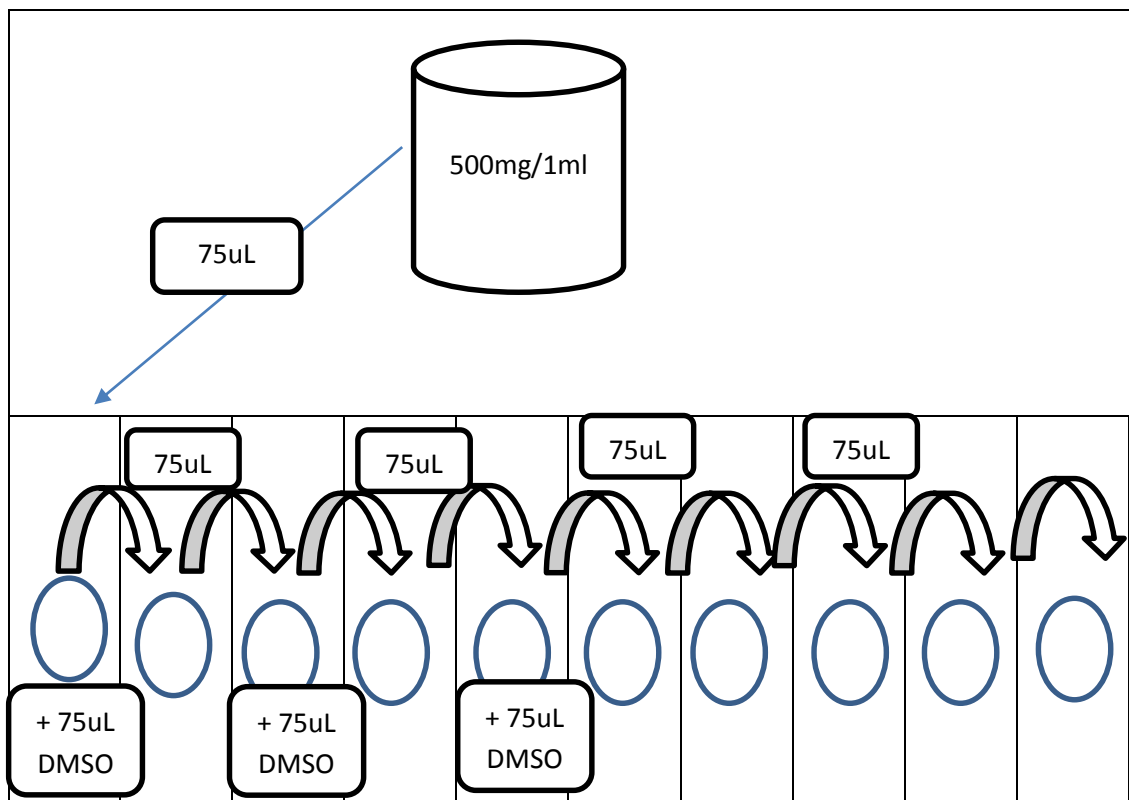


Figura N°2: Obtención de concentraciones



### **3.6.7 PREPARACIÓN DE CONTROLES**

- a. El control positivo usado en la prueba fue el antibiótico gentamicina (160mg/2ml), del cual se utilizó 0.64 ml y se enrasó hasta 5 ml de agua destilada en un tubo estéril para obtener una solución madre o stock de 10240 µg/ml.
- b. De la solución madre sacamos 0.2 ml y fue añadido al tubo N° 01 que contuvo 1.8 ml de caldo Mueller Hinton.
- c. Del tubo N° 01 se sacó 75uL para ser añadido al Tubo N° 02 y así sucesivamente hasta llegar al tubo N° 10.
- d. Del tubo N° 10 se sacó 75uL que fue desechado.
- e. Después de este proceso se añadió a todos los tubos 75uL de la suspensión bacteriana.
- f. Las concentraciones comprenden entre los rangos de 512 µg/ml a 1µg/ml.

### **3.6.8. PARTE EXPERIMENTAL**

Una vez obtenida las concentraciones de ambas muestras en estudio procedemos a realizar la parte experimental: enumeramos 10 tubos para cada muestra en el cual agregamos a cada uno 75uL de cada concentración de muestra obtenida y adicionamos 75uL de suspensión bacteriana en cada tubo. Luego de este proceso llevamos a la incubadora a 35°C durante 24 horas.

Después de las 24 horas de incubación procedemos a la lectura de resultados observamos si hay o no presencia de turbidez en cada tubo según los controles preparados.

## CAPITULO IV

### PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

#### 4.1 PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

Tabla N°4: Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de la raíz del *Zingiber officinale roscoe* (kion)

ENSAYOS	METABOLITOS	IDENTIFICACION
Mayer	Alcaloides	++
Ninhidrina	Aminoácidos y Aminas	+++
Baljet	Lactonas	++
Bomtrager	Quinonas	+++
Liebermann – Burchard	Triterpenos	+
Antocianidinas	Antocianidinas	+
Fehling	Azúcares Reductores	+
Catequinas	Catequinas	-
Shinoda	Flavonoides	+
Kedde	Glicósidos Cardiotónicos	+
Resinas	Resinas	+
Espuma	Saponinas	-
Cloruro Férrico	Taninos	+

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Los resultados obtenidos durante la marcha fitoquímica del extracto etanólico de la raíz de *Zingiber officinale roscoe* (kion) se obtuvo en mayor cantidad los siguientes metabolitos secundarios: quinonas, alcaloides y lactonas.

**Tabla Nº 5: Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de la raíz de *Cúrcuma longa L.* (palillo)**

ENSAYOS	METABOLITOS	IDENTIFICACION
Mayer	Alcaloides	-
Baljet	Lactonas	-
Liebermnn – Burchard	Triterpenos	+++
Fehling	Azúcares Reductores	-
Hidroxamato Ferrico	Cumarinas	-
Shinoda	Flavonoides	-
Mucilagos	Polisacáridos	+++
Espuma	Saponinas	-
Resinas	Resinas	+
Cloruro Férrico	Taninos	-
Catequinas	Catequinas	-
<b>Compuestos fenólicos</b>		<b>+++</b>

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (+) Positivo (-) Negativo

Los resultados obtenidos durante la marcha fitoquímica del extracto etanólico de la raíz de *Cúrcuma longa L.* se obtuvo en mayor cantidad los siguientes metabolitos secundarios: triterpenos, polisacáridos y compuestos fenólicos.

## 4.2 CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

### Hipótesis general

- **H<sub>1</sub>:** Existe 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*.
- **H<sub>0</sub>:** No existe 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*.

La hipótesis general se contrasta en función de los resultados obtenidos para la contrastación de las hipótesis específicas.

**Decisión:** Habiéndose obtenido resultados significativos con cada uno de los extractos utilizados (*Zingiber officinale roscoe* y *Cúrcuma longa L.*), es decir, que ambos presentan actividad bacteriana in vitro frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, en consecuencia, se rechaza la hipótesis nula de la hipótesis general de estudio.

### **Hipótesis específica 1**

- **H<sub>1</sub>:** Existen tipos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo).
- **H<sub>0</sub>:** No existen tipos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo).

Durante la marcha fitoquímica del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo) evidenciamos que existen diferentes metabolitos secundarios quienes son los responsables de la actividad terapéutica.

**Decisión:** Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula.

### **Hipótesis específica 2**

- **H<sub>2</sub>:** Existe 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* mediante el método de macrodilución.
- **H<sub>0</sub>:** No existe 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* mediante el método de macrodilución.

**Tabla N°6: Resultados obtenidos en los ensayos del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo) según el método de macrodilución.**

	<i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion)		<i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo)	
	CIM	Clasificación	CIM	Clasificación
C1	37.5 mg/ml	Inactivo	37.5 mg/ml	Inactivo
C2	18.75 mg/ml	Inactivo	18.75 mg/ml	Inactivo
C3	9.375 mg/ml	Actividad intermedia	9.375 mg/ml	Actividad intermedia
C4	4.68 mg/ml	Actividad intermedia	4.68 mg/ml	Actividad intermedia
C5	<b>2.34 mg/ml</b>	<b>Buena actividad</b>	2.34 mg/ml	Actividad intermedia
C6	1.17 mg/ml	Poca actividad	<b>1.17 mg/ml</b>	<b>Buena actividad</b>
C7	0.58 mg/ml	Poca actividad	0.58 mg/ml	Poca actividad
C8	0.292 mg/ml	Poca actividad	0.292 mg/ml	Poca actividad
C9	0.146 mg/ml	Poca actividad	0.146 mg/ml	Poca actividad
C10	0.073 mg/ml	Poca actividad	0.073 mg/ml	Poca actividad

Fuente: elaboración propia

Mediante el método de macrodilución se demostró que los extractos etanólicos de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo), presentan buena actividad antibacteriana teniendo como referencia los estándares dados por Clinical and Laboratory Standards Institute. NLSI-2013 frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

**Decisión:** Por lo tanto se rechaza la hipótesis nula.

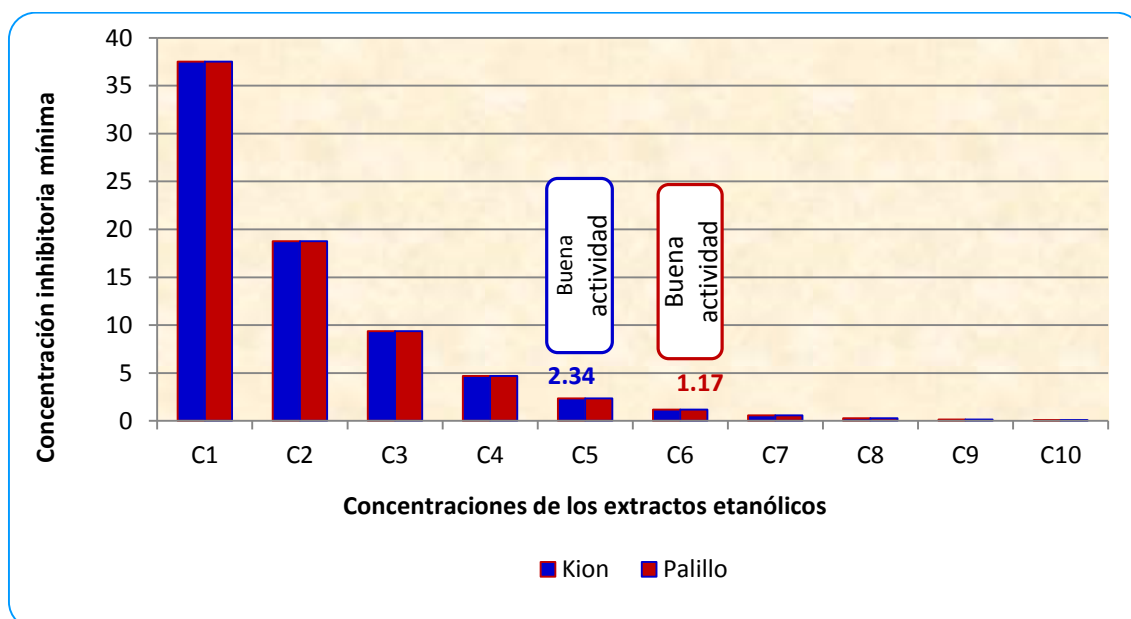


Figura N°3: Concentración mínima inhibitoria para los extractos etanólicos de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo).

### Hipótesis específica 3

- **H<sub>3</sub>:** Existe una concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.
- **H<sub>0</sub>:** No existe una concentración mínima inhibitoria (CMI) in vitro del extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (kion) y *Cúrcuma longa L.* (palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.

**Tabla N°7: Resultados obtenidos en el ensayo de concentración inhibitoria mínima del extracto etanólico de *Zingiber officinale roscoe* (kion).**

	<b><i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion)</b>	
	<b>CIM</b>	<b>Clasificación</b>
C1	37.5 mg/ml	Inactivo
C2	18.75 mg/ml	Inactivo
C3	9.375 mg/ml	Actividad intermedia
C4	4.68 mg/ml	Actividad intermedia
C5	<b>2.34 mg/ml</b>	<b>Buena actividad</b>
C6	1.17 mg/ml	Poca actividad
C7	0.58 mg/ml	Poca actividad
C8	0.292 mg/ml	Poca actividad
C9	0.146 mg/ml	Poca actividad
C10	0.073 mg/ml	Poca actividad

Fuente: elaboración propia

Se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) del extracto etanólico de la raíz de *Zingiber officinale roscoe* (kion) mediante el método de macrodilución frente a cepas de *Staphylococcus aureus* teniendo como buena actividad 2.34 mg/ml según el estándar dado por Clinical and Laboratory Standards Institute. NLSI-2013.

**Decisión:** Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula.

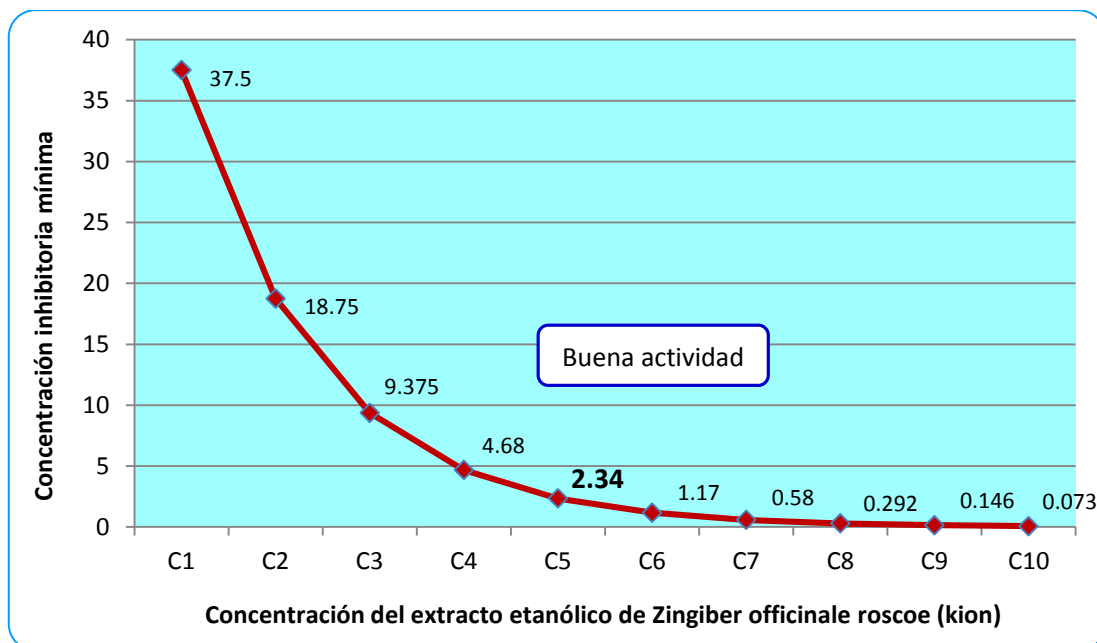


Figura N°4: Concentración mínima inhibitoria para el extracto etanólico de *Zingiber officinale roscoe* (kion).

Tabla N°8: Resultados obtenidos en el ensayo de concentración inhibitoria mínima del extracto etanólico de la raíz de *Cúrcuma longa L.* (palillo).

	Cúrcuma longa L. (palillo)	
	CIM	Clasificación
C1	37.5 mg/ml	Inactivo
C2	18.75 mg/ml	Inactivo
C3	9.375 mg/ml	Actividad intermedia
C4	4.68 mg/ml	Actividad intermedia
C5	2.34 mg/ml	Actividad intermedia
C6	<b>1.17 mg/ml</b>	<b>Buena actividad</b>
C7	0.58 mg/ml	Poca actividad
C8	0.292 mg/ml	Poca actividad
C9	0.146 mg/ml	Poca actividad
C10	0.073 mg/ml	Poca actividad

Fuente: elaboración propia

Se estableció la concentración inhibitoria mínima (MIC) del extracto etanólico de la raíz de *Cúrcuma longa L.* (palillo) mediante el método de macrodilución frente a

*Staphylococcus aureus* en un intervalo de concentración de 0.073 mg/ml hasta 37.5 mg/ml.

Respecto a los resultados obtenidos queda comprobado que el extracto etanólico de la raíz de *Cúrcuma longa* L. (palillo) presenta buena actividad antibacteriana in vitro a concentración de 1.17 mg/ml frente a cepas de *Staphylococcus aureus* según el estándar dado por Clinical and Laboratory Standards Institute. NLSI-2013.

**Decisión:** Por consiguiente, se rechaza la hipótesis nula.

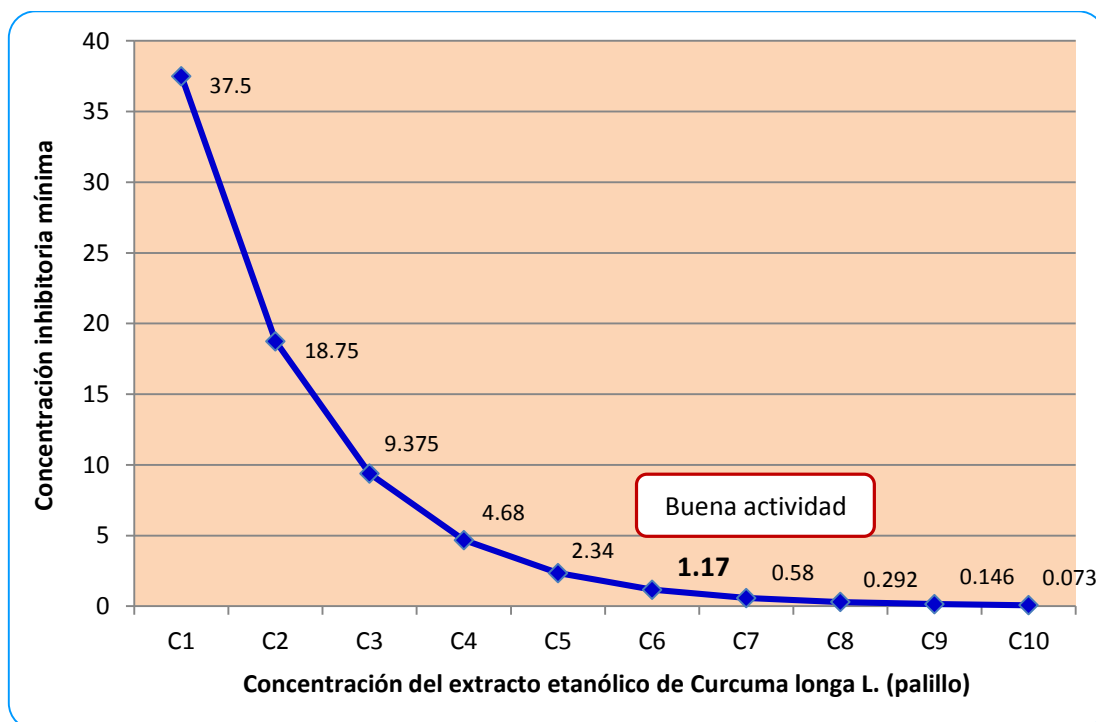


Figura N°5: Concentración mínima inhibitoria para el extracto etanólico de *Cúrcuma longa* L. (palillo)



### 4.3 DISCUSION DE RESULTADOS

1. Durante el estudio del tamizaje fitoquímico del extracto etanólico del *Zingiber officinale roscoe* (Kion) obtuvimos como resultado la presencia de metabolitos secundarios como quinonas, lactonas y alcaloides. Del mismo modo durante en el tamizaje fitoquímico de la *Cúrcuma longa L.* (Palillo) obtuvimos mayor concentración de compuestos fenólicos, mucilagos, triterpenos y aceites esenciales como los curcuminoides quienes en conjunto son responsables del efecto antibacteriano, por lo tanto confirmamos que los resultados que obtuvimos son semejantes a los reportados por Ramani et al. (2012), quienes en el estudio obtuvieron la presencia de metabolitos como las saponinas, fenoles, principios amargos y almidón.<sup>20</sup> Por otro lado Obire et al. (2009), refiere que las especies de la familia de las zingiberaceae revelan la presencia de fenoles, saponinas, triterpenoides y taninos.<sup>25</sup> Del mismo modo confirmamos lo reportado por Enríquez F, et al (2007), quien en su trabajo de investigación establece los parámetros de calidad e identificación de los fitoconstituyentes del rizoma de *Zingiber officinale roscoe* cultivado en nuestro país. Dicho estudio farmacognóstico elaborado se basó en la identificación y clasificación taxonómica, en el cual durante el tamizaje fitoquímico nos señalaron la presencia de alcaloides, lactonas, aceites, glicósidos cardiotónicos, triterpenos, quinonas, resinas, taninos, flavonoides, azúcares reductores, antocianidinas, mucilagos y aminoácidos.<sup>33</sup>
2. En la investigación realizada del extracto etanólico del *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo), frente a cepas de *Staphylococcus aureus* se demostró que existe efecto antibacteriano mediante el método de macrodilucion teniendo un intervalo de concentración de 0.073 mg/ml hasta 37.5 mg/ml. por lo que confirmamos el estudio publicado por Mozioglu et al. (2008), quienes en su estudio también evaluaron la actividad antibacteriana y antifúngica del extracto etanólico del rizoma de la *Cúrcuma longa L.* (Palillo), existiendo una gran actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*. También presentó una débil actividad antibacteriana contra *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichiacoli* y antifúngica contra *Cándida albicans* en función de la extracción etanólica de la cúrcuma.<sup>22</sup>
3. La concentración mínima inhibitoria (CMI) que se obtuvo durante el desarrollo experimental del extracto etanólico del *Zingiber officinale roscoe* (Kion) presenta sensibilidad antibacteriana in vitro a una concentración de 2.34 mg/ml y el extracto etanólico de *Cúrcuma longa L.* (Palillo) presenta actividad antibacteriana in vitro a

una concentración de 1.17 mg/ml. Por tanto confirmamos lo reportado por Sunilson et al. (2009), donde establece que la actividad antimicrobiana del extracto metanólico del rizoma de *Cúrcuma longa* L. (Palillo) y las demás especies de la familia de las zingiberáceas mostraron actividad antimicrobiana contra las bacterias y hongos más comunes transmitidas por los alimentos comunes tales como *Salmonella enteriditis*, *Clostridium* *Escherichia coli*, *perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *Bacillus cereus* y hongos como *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula anomala*, *Mucormucedo*, *Candida albicans*.<sup>21</sup>

## CAPITULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. CONCLUSIONES:

1. Durante el tamizaje fitoquímico se demostró que el extracto etanólico *del Zingiber officinale roscoe* (Kion) presento los siguientes metabolitos secundarios como quinonas, alcaloides y lactonas; Así mismo la *Cúrcuma longa L.* (Palillo) presento metabolitos secundarios como compuestos fenólicos, triterpenos y polisacáridos, los cuales nos ayudaron a evidenciar el efecto antibacteriano.
2. Mediante el método de macrodilucion se demostró el efecto antibacteriano que existe en el extracto etanólico de las raíces de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo) frente a cepas de *Staphylococcus aureus*.
3. La concentración mínima inhibitoria (MIC) del extracto etanólico de la raíz de *Zingiber officinale roscoe* (Kion) fue de 2.34mg/ml y del extracto etanólico de la raíz de *Cúrcuma longa L.* (Palillo) fue de 1.17mg/ml concluyendo así que posee efecto antibacteriano sobre el crecimiento de cepas de *Staphylococcus aureus*.

## 5.2. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios posteriores de las muestras descritas en el presente estudio ya que cuentan con múltiples metabolitos secundarios que ayudan y favorecen a nuevas alternativas terapéuticas.
2. Se recomienda realizar ensayos en laboratorios que cuenten con equipos e insumos adecuados, que nos permitan obtener resultados óptimos y específicos, ya que algunas plantas con actividades farmacológicas y cepas en estudio cuentan con un determinado tiempo de vida.
3. Se recomienda utilizar estos productos naturales como alternativa de tratamiento frente a infecciones causadas por bacterias gram positivas, ya que poseen menos reacciones adversas y son de fácil acceso y económicos, previa información de dichos recursos naturales.

## REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Revista sobre la descripción del Jengibre-[www.muuplam.org/wp-content/uploads/2014/11/Zingiber-officinale-Jenigibre.pdf](http://www.muuplam.org/wp-content/uploads/2014/11/Zingiber-officinale-Jenigibre.pdf) -2014
2. Enríquez Flores A. Prieto Vela E. Estudio farmacognóstico y fitoquímico del rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe “Jengibre” de la ciudad de Chanchamayo - Región Junín. Perú. Trabajo de Investigación. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Farmacia Y Bioquímica. Trujillo – 2007.(Pag. 25-29-32-34-40)
3. Unidad de Farmacología y Farmacognosia. Facultad de Farmacia. Universidad de Barcelon/Vol 22 Núm 2 febrero 2003(Pag 168)
4. Obando Sanchez Y.Quintero Romero Y. Elaboración De Un Producto Soluble A Base De Jengibre (*Zingiber Officinale* Roscoe) Saborizada Con Limoncillo (*Cymbopogon Citratus*).Tesis para obtener el título de Tecnólogo en Química. Universidad Tecnológica de Pereira Facultad de Tecnologías Escuela de Química – Pereira – 2009.(Pag.13-16-22-29-32)
5. Saiz de Cos P.Reduca (Biología). Serie Botánica. 7 (2): 84-99, 2014. / Cúrcuma I (*Cúrcuma longa* L.) Universidad Complutense de Madrid Departamento Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal) Facultad de Biología, Universidad Complutense. Madrid. 2014.(Pag 16-19-25-19)
6. Salazar Almeida C.Flores Vallejo Evaluación De Los Parámetros de Crecimiento de Alevines de Tilapia Roja (*Oreochromis* Sp.) Con Dietas Enriquecidas con dos Aceites Esenciales: Cúrcuma (*Cúrcuma Longa*) Y Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*). Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: Ingenieros en Biotecnología de recursos naturales. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito.- Quito – 2015.(Pag. 46-2-16-29-62-33)
7. Ramírez Tortosa M. Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de Cúrcuma longa L. y de los cucuminoides Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. 2014(Pag. 21-22)
8. Cúrcuma pdf Historia, cualidades de la cúrcuma -2012 (Pag 6-9-12-16))

9. Ramos Gonzales E. Evaluación De Tres Abonos Orgánicos En El Cultivo de Cúrcuma (*Cúrcuma Longa L. Zingiberaceae*), En El Canton Chiguaxte, Municipio De Samayac, Suchitepequez. Tesis para la obtención del título Ingeniero Agrónomo. Universidad Rafael Landívar Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas Licenciatura En Ciencias Agrícolas con énfasis en Cultivos Tropicales. – Coatepeque- 2010.( Pag -5-9-12-48)
10. Sanchez, Remedios M. Platinetti, Leticia A. Porcal Ruiz, M. “Galletas a Base de Harina de Trigo Enriquecidas con Extracto de Jengibre rico en Polifenoles” Trabajo de Investigación de Licenciatura en Nutrición. Escuela de Nutrición de Ciencias Médicas. Córdoba- 2016.(Pag 26)
11. Zozoranga Reyes R. Universidad Católica De Cuenca “Estudio de las Aplicaciones Terapéuticas del Jengibre”. Obtención del Título de Químico Farmacéutico. Ecuador – 2014 (Pag. 33)
12. Inca Torres A. Tesis para obtención de título Bioquímico Farmacéutico “Elaboración de un Fitofármaco Semisólido de acción adelgazante con diferentes dosis a base de Alcachofa (*Cynara Cardunculus Var Scolymus*), Jengibre (*Zingiber Officinale*) y Cáscara de Naranja (*Citrus Sinensis*) administrado a personas para comparar su eficacia.”Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad De Ciencias Escuela De Bioquímica Y Farmacia - Ecuador- 2012
13. Him de Fréitez, Rodríguez; E. Sanabria y. Rodríguez. Efecto de los extractos Etanolicos de Jengibre (*Zingiber Officinale Roscoe*) Sobre El Crecimiento Micelial *In Vitro* De *Rhizoctonia Solani* Ag1-1a.Zaragoza 2006 (Pag 9-10)
14. Dr. De Colza Ranero A. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría Vol. XXIV Núm. 95. Microbiología Molecular Clínico-Mexico- 2011.
15. Walther Iván Girón Matute. Artículo de revisión Antimicrobianos. Rev. Fac. Cienc. Méd. Universidad Nacional Autónoma de Honduras- Honduras- 2008
16. (OMS) ORGANIZACIÓN Mundial de la Salud- 2018

17. Jaime A. Bustos-Martínez, Aída Hamdan-Partida, Marcia Gutiérrez-Cárdenas *Rev Biomed* 2006; 17:287-305. *Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno en la comunidad*. Depto. de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. México, D.F., México.2006.
18. Estrella Cervantes-García,\* Rafael García-González,\* Paz María Salazar-Schettino\* *Revista Latinoamericana de patología Clínica. Características generales del Staphylococcus aureus – Mexico – 2014.*(Pag 54-59-75)
19. Velazco Chong J. Navarro Navarro P. “Actividad Antibacteriana *In vitro* del extracto hidroalcohólico de *Cúrcuma Longa* (Guisador), mediante el método de macrodilución frente A *Staphylococcus Aureus* Y *Escherichia Coli*” para obtener el título de Químico Farmacéutico. Iquitos- 2013 Pag 26-29-32.
20. Ramani K. Satpal B. Mishra R. Amrita P. Praveen B. Antimicrobial properties of few plants used in traditional system of medicine. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*.2012; Vol. 3, Nº 4, 563-564.
21. Sunilson J. Suraj R. Rejitha G. Anandarajagopal K. Gnana A. Promwicht P *in vitro* Antimicrobial Evaluation of *Zingiber officinale*, *Curcuma longa* and *Alpinia galanga* Extracts as Natural Food Preservatives. *American Journal of Food Technology*. 2009; Vol. 4, Nº 5, 192-200
22. Mozioglu E. Cikrikci S. Yilmaz H. Biological Activity of Curcuminoids Isolated from *Curcuma longa*. *Rec. Nat. Prod.* 2008; Vol 2, Nº 1, 19-24.
23. Taroco V. Seija R. Vignoli C. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Procedimientos de Microbiología Clínica*. 2001; 663 – 670
24. Bengmark S. Mesa M. Gil A. Efectos saludables de la cúrcuma y de los curcuminoides. *Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos*. 2001;1-26.
25. Obire O. Okigbo R. Anuagasi C. Potential inhibitory effects of some African tubereous plant extracts on *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *International Journal of Integrative Biology*. 2009; Vol. 6, Nº 2, 91-98.
26. Guillem Prats 2013. *Microbiología y Parasitología Medica*” Editorial Panamericana pág. 234 9na Edición.

27. Patrick M, Ken R, Michael P. (2006) Morfología, síntesis y estructura de la pared celular de las bacterias. In Mosby E, editor. Microbiología médica. 5ta ed. Madrid España: Gea consultoría. P.11-13.
28. Instituto Nacional de Salud. Informe de la resistencia antimicrobiana en Hospitales del Perú: Ministerio de Salud; 2008.
29. Espinoza V. Muñoz F. Gérmenes bacterianos más frecuentes y su patrón de sensibilidades y resistencias en un Hospital Pediátrico de tercer nivel. Tesis para obtener el título de Pediatría Médica]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2011.
30. Kasper, Dennis L.; Braunwald, E.; Fauci, A.S.; Hauser, S.L.; Longo, D.L.; Jameson, J.L.; Isselbacher. (2005). Eds. Harrison Principios de Medicina interna. 16ª Edición. Sección 5. Capítulo 120.
31. Patrick r. Murray, ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller. Microbiología Médica 7ª Edición 2014.
32. Aguirre Acevedo, Yvan Willian; Gutiérrez Toribio, Cristian Paolo Determinación de la actividad antimicrobiana in vitro del aceite esencial extraído de la raíz de cúrcuma longa L. (cúrcuma) en *candida albicans*, *staphylococcus aureus* y *escherichia coli*". Disponible (2017) en <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/5842>
33. Enríquez F. Andrés M; Prieto Vela, Eliana Patricia (2007). Estudio farmacognóstico y fitoquímico del rizoma de *Zingiber officinale roscoe* "jengibre" de la ciudad de Chanchamayo - región Junín - Perú. Disponible en <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/4770>
34. Apares Arango, R. Efecto Sinérgico Antimicrobiano del Aceite Esencial de *Origanum vulgare* con Amikacina comparado con Amikacina en *Escherichia coli*, in Vitro. [Tesis] Lima; 2016.



35. Palomino Tantaleán, K. Efecto sinérgico in vitro entre el extracto etanólico de *solanum sessiliflorum* “cocona” y vancomicina sobre el crecimiento de *staphylococcus aureus* resistente a metilicina. [Tesis] Trujillo; 2014.
36. Haro, A. Estudio in vitro de la eficacia antibacteriana entre el extracto alcohólico de *Caesalpinia spinosa* (tara) al 100% e hipoclorito de sodio al 5,25% sobre el *Enterococcus faecalis*. [Tesis para la obtención del título de Odontólogo], Universidad central del Ecuador facultad de Odontología; 2015.
37. Winkelmann RR, Del Rosso J, Rigel DS. Extracto de *Polypodium leucotomos*: un informe sobre la eficacia clínica y la seguridad. [Tesis]New York; 2015.
38. Solivellas, M. *Polypodium leucotomos* Extracto de uso para prevenir y reducir el riesgo de enfermedades infecciosas en deportistas de alto rendimiento [Tesis].Servicio de Otorrinolaringología del Hospital General Universitario. Madrid; 2012.(Pág. 59-60)
39. Guevara, T. Elaboración y determinación de eficacia in vivo de un gel para el acné a base de calaguala (*Campyloneurum amphostenon*). [Tesis para la obtención del título de Químico Farmacéutico]. Escuela superior politécnica de Chimborazo facultad de ciencias. Ecuador; 2011.
40. Mesa, M.D “Efectos farmacológicos y nutricionales de los extractos de cúrcuma longa L. y de los cucuminoides. *ArsPharm.* . (2000)
41. MsC. OneydaClapéLaffita <sup>1</sup> y MsC. Alfredo Alfonso Castillo avances en la caracterización farmacotoxicológica de la planta medicinal *Cúrcuma longa* Linn”. (2012)
42. Galas, M.; Pasteran, F.. Sensibilidad a los Antimicrobianos. Argentina. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Pag 104-. 2006
43. Goodman y Gilman. Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica Editorial Mc Graw Hill pág. 56 12va Edición. 2007

44. Bertran, G.. Farmacología Básica y Clínica” Editorial Mc Graw Hill (pág. 70) 12va Edición. 2013
45. Guillem Prats. Microbiología y Parasitología Medica” Editorial Panamericana pág. 234 (9na Edición.)- 2013
46. Huarino Acho M.Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (tara) Sobre flora salival mixta. [tesis para optar el titulo de cirujano dentista].Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología; 2011.
47. Ramos FM. Microbiología: Halos de inhibición. [Online].; [cited 20170128.Availablefrom:<http://microbiologia3bequipo5.blogspot.pe/2014/10/halos-de-inhibicion.html>. 2014
48. Descriptores de la ciencia de la salud [internet] . Sao paulo: Biblioteca virtual de salud. [Online].; 2003 [cited 2017 01 01. Available from: <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decsserver/>.
49. Jean Bruneton, Angel María Villar del Fresno, Farmacognosia, Fitoquímica, plantas medicinales; Editorial Acribia S.A. pág. 34-68 (2ª edición) – 2001.
50. Jean Bruneton, Ángel Villar del Fresno, Emilia Carretero Accame: Elementos de fitoquímica y de farmacognosia; Editorial Acribia pág. 96 (3ª Edición) – 1991.

**ANEXO N°1**



**MATRIZ DE CONSISTENCIA**

**TITULO: “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***

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
<p><b>GENERAL:</b> ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p><b>ESPECÍFICOS:</b> 1. ¿Cuáles son los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo)? 2. ¿Cuál es el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> mediante el método de macrodilución? 3. ¿Cuál es la CMI in vitro del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p><b>GENERAL:</b> Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>ESPECÍFICOS:</b> 1. Determinar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo). 2. Determinar el efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> mediante el método de macrodilución. 3. Determinar la CMI in vitro del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p><b>GENERAL:</b> Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>ESPECÍFICOS:</b> 1. Existen tipos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo). 2. Existe efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> mediante el método de macrodilución. 3. Existe una CMI in vitro del extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (palillo) frente a cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p><b>VI:</b> Extracto etanólico de las raíces de <i>Zingiber officinale roscoe</i> (Kion) y <i>Cúrcuma longa L.</i> (Palillo).</p> <p><b>VD:</b> Efecto antibacteriano.</p>	<p>Estudio Fitoquímico.</p> <p>Estudio Farmacológico.</p> <p>Concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de macrodilución.</p>	<p>Metabolitos secundarios.</p> <p>Concentración P/V</p> <p>- Concentración mínima inhibitoria (CMI).</p> <p>- Turbidez</p>	<p><b>TIPO:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transversal</li> <li>• Analítico</li> </ul> <p><b>DISEÑO:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Experimental</li> </ul> <p><b>NIVEL:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aplicado</li> </ul> <p><b>POBLACIÓN:</b> Bacteria <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>MUESTRA:</b> Colonias de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p><b>INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS:</b></p> <p><b>Técnica:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Observacional</li> </ul> <p><b>Instrumento:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ficha de recolección de datos.</li> </ul>

## ANEXO 2.

### CERTIFICADO DE MUESTRA BOTÁNICA *Curcuma longa* L. (Palillo)

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

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

**CONSTANCIA N° 249-USM-2017**

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 (rizoma) recibida de **Ema Edith PUENTE CONTRERAS**, estudiante de la Facultad de Ciencias Farmacológicas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilazo de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: ***Curcuma longa* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: LILIOPSIDA**

**SUBCLASE: ZINGIBERIDAE**

**ORDEN: ZINGIBERALES**

**FAMILIA: ZINGIBERACEAE**

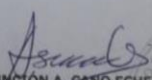
**GENERO: *Curcuma***


**ESPECIE: *Curcuma longa* L.**

Nombre vulgar: "palillo"  
Determinado por Mg. María I. La Torre

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

Lima, 02 de noviembre de 2017



  
**Mag. ASUNCIÓN A. CAÑO ECHEVARRIA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/ddb

### ANEXO 3.

## CERTIFICADO DE MUESTRA BOTÁNICA *Zingiber officinale roscoe.* (Kion)

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

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

**CONSTANCIA N° 250-USM-2017**

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 (rizoma) recibida de **Ema Edith PUENTE CONTRERAS**, estudiante de la Facultad de Ciencias Farmacológicas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilazo de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: ***Zingiber officinale*** Roscoe y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: LILIOPSIDA**

**SUBCLASE: ZINGIBERIDAE**

**ORDEN: ZINGIBERALES**

**FAMILIA: ZINGIBERACEAE**

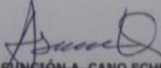
**GENERO: *Zingiber***


**ESPECIE: *Zingiber officinale* Roscoe**

Nombre vulgar: "kion"  
Determinado por Mg. María I. La Torre

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

Lima, 02 de noviembre de 2017

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



AL.E./000

**ANEXO 4.**

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA OBTENCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo)**

**KION ( ) PALILLO ( )**

<b>ENSAYOS</b>	<b>METABOLITOS</b>	<b>IDENTIFICACION</b>
<b>Dragendorf</b>	Alcaloides	
<b>Mayer</b>	Alcaloides	
<b>Wagner</b>	Alcaloides	
<b>Ninhidrina</b>	Aminoacidos y Aminas	
<b>Baljet</b>	Lactonas	
<b>Bomtrager</b>	Quinonas	
<b>Liebermnn – Burchard</b>	Triterpenos	
<b>Antocianidinas</b>	Antocianidinas	
<b>Fehling</b>	Azúcares Reductores	
<b>Catequinas</b>	Catequinas	
<b>Shinoda</b>	Flavonoides	
<b>Kedde</b>	Glicósidos Cardiotónicos	
<b>Resinas</b>	Resinas	
<b>Espuma</b>	Saponinas	
<b>Cloruro Férrico</b>	Taninos	

**LEYENDA: (+) POSITIVO (-) NEGATIVO**

ANEXO 5.

FICHA DE RECOLECCION DE DATOS PARA DETERMINAR LA CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA (CMI) DEL EXTRACTO ETANOLICO DEL *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo)

	EXTRACTO ETANOLICO ( )	
	CIM	Clasificación
C1		
C2		
C3		
C4		
C5		
C6		
C7		
C8		
C9		
C10		

Leyenda:

- Poco Activo
- Buena Actividad
- Actividad intermedia
- Inactivo

**MUESTRA EN ESTUDIO: *Zingiber officinale roscoe* (Kion)**



**Figura N°6: Selección y corte en trozos pequeños.**



**MUESTRA EN ESTUDIO: *Cúrcuma longa* L. (Palillo)**



**Figura N°7: Selección y corte en fragmentos pequeños.**



**Figura N°8: Maceración y Filtración del extracto etanólico del *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa* L. (Palillo**

## OBTENCION DEL EXTRACTO ETANÓLICO



Figura N°9: Proceso de extracción etanólico del *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo) mediante la extracción en rotavapor.

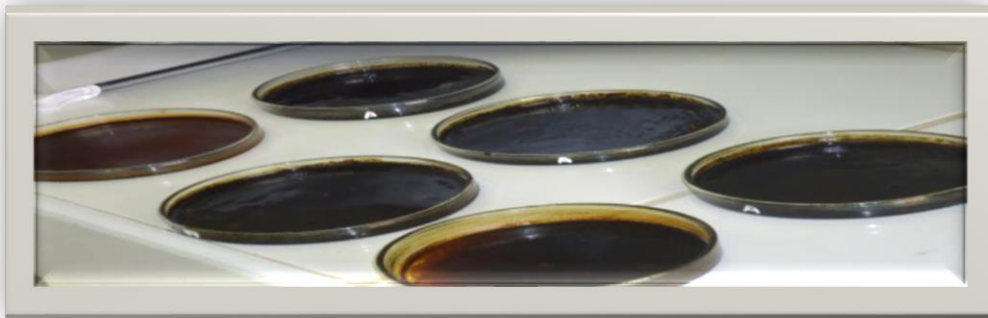


Figura N°10: Secado del extracto etanólico del *Zingiber officinale roscoe* (Kion) y *Cúrcuma longa L.* (Palillo), en placas durante 24 horas en la estufa a 40°C.

## PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA LA OBTENCION DE METABOLITOS SECUNDARIOS



**Figura N°11: Enumeramos los tubos y procedemos a realizar la marcha fitoquímica.**

## REACTIVACIÓN DE CEPAS



Figura N°12: Descongelamos la cepa *Staphylococcus aureus* a temperatura ambiente.



Figura N°13: Reactivación de la cepa en caldo nutritivo.



Figura N°14: Sembrío de bacteria e incubación a 37°C por 24 horas.

## PREPARACIÓN DEL INÓCULO BACTERIANO



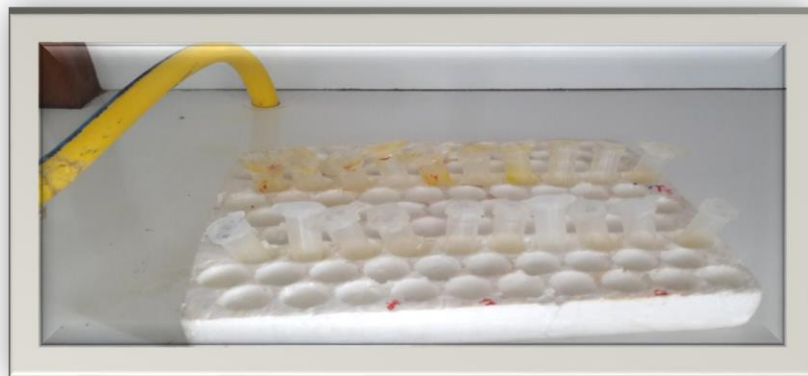
**Figura Nº15: Preparación del inóculo bacteriano en medio de cultivo caldo Mueller Hinton.**

## PREPARACIÓN DE PLACAS DE MUELLER HINTON



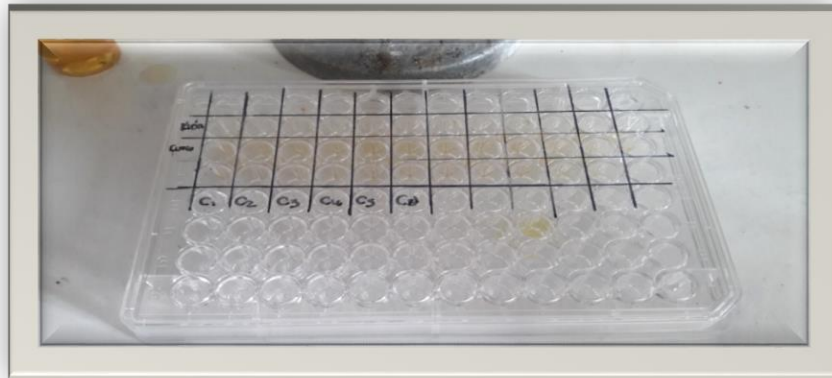
**Figura N°16: Inocular la superficie seca de la placa, estriando con el hisopo en cuatro direcciones, para asegurar la distribución uniforme del inóculo.**

## PREPARACION DE LAS CONCENTRACIONES



**Figura N°17: Cogemos 0.5g de la muestra y disolvemos en 1ml de DMSO. (Solución madre), y procedemos a realizar las diluciones**

**PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL DE LAS MUESTRAS FRENTE A CEPAS  
DE *Staphylococcus aureus***



**Figura N°18: Agregamos en cada uno 75ul de patógeno y 75 ul de extracto.**