

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* "Mutuy" FRENTE A LA CEPA DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

PRESENTADO POR:

Br. JEFFREY JONATHAN HUAMAN RIMACHI

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

ASESORA:

Dra. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ

CO – ASESOR:

Mgt. ROGER GIANCARLO GUTIERREZ CHAVEZ

CUSCO – PERÚ

2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

(Aprobado por Resolución Nro. CU-303-2020-UNSAAC)

El que suscribe, **Asesor** del trabajo de investigación/tesis titulada: **ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* "Mutuy" FRENTE A LA CEPA DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

presentado por: JEFFREY JONATHAN HUAMAN RIMACHI con DNI Nro.: 47873814

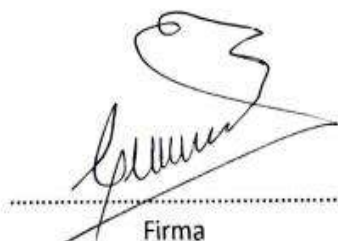
para optar al título profesional/grado académico de **QUÍMICO FARMACÉUTICO**
Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por **02** veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de **08%**.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No se considera plagio.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las correcciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, quien a su vez eleva el informe a la autoridad académica para que tome las acciones correspondientes. Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y **adjunto** la primera página del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 28 de MAYO de 2024



Firma

Post firma: CARLA DEL CARPIO JIMÉNEZ

Nro. de DNI 23945000.

ORCID del Asesor: 0000-0001-7487-354X

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid:27259:357661813 ✓

NOMBRE DEL TRABAJO

Tesis Final Jeffrey Jonathan Huaman Rimachi.pdf

AUTOR

Carla Del Carpio

RECUENTO DE PALABRAS

23876 Words

RECUENTO DE CARACTERES

139128 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

131 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

8.3MB

FECHA DE ENTREGA

May 27, 2024 5:42 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

May 27, 2024 5:46 PM GMT-5**● 8% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 6% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 3% Base de datos de trabajos entregados
- 0% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 15 palabras)
- Bloques de texto excluidos manualmente
- Material citado
- Fuentes excluidas manualmente

DEDICATORIA

A Dios por haberme dado salud para seguir adelante y concluir esta etapa de formación académica.

A mi padre Valerio Huaman Cueva por el apoyo incondicional, por la motivación constante que me dio para no rendirme y seguir adelante.

A mi madre Veronica Rimachi Huaman por la confianza y cariño que me ayudaron a ser una persona de bien y nunca rendirme.

A mis hermanos Ana Lucia y Darcy por ser una parte importante en mi vida.

A mis abuelos Esteban, Ceferina y Tomasa por ser una parte importante en mi vida, por su gran apoyo y consejos que me dieron para ser una persona de bien y triunfar.

A Ingrid por su confianza y apoyo en cada momento del presente trabajo.

Y a todas aquellas personas que fueron partícipes en este presente trabajo de investigación.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que contribuyeron a mi formación académica.

Mi agradecimiento a la Dra. Carla del Carpio Jiménez por su apoyo y paciencia durante el proceso del presente trabajo de Investigación.

Mi agradecimiento al Mgt. Roger Giancarlos Gutierrez Chavez por el apoyo en todo momento durante este presente trabajo de investigación.

Mi agradecimiento al Quim. Jorge Choquenaira Pari por el apoyo en todo momento durante este presente trabajo de investigación.

Mi agradecimiento al Biólogo. Kevin Ccala Caviedes por el apoyo en todo momento durante este presente trabajo de investigación.

A los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica que contribuyeron en mi formación académica.

INDICE

DEDICATORIA.....	IV
AGRADECIMIENTOS	IV
RESUMEN	XIII
SUMMARY	XVI
INTRODUCCION	XVIII
CAPITULO I	1
ASPECTOS GENERALES	1
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Formulación del problema	2
1.3. Objetivo	2
1.3.1. Objetivo General	2
1.3.2. Objetivos Específicos.....	2
1.4. Justificación e importancia del estudio	3
1.4.1. Conocimiento	3
1.4.2. Prioridad.....	3
1.4.3. Práctica.	3
1.4.4. Aspecto Social.	3
1.5. Hipótesis.....	4
CAPÍTULO II	5
MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	5
2.1. Visión Histórica.....	5
2.2. Antecedentes del estudio	5
2.2.1. Antecedentes Internacionales	5
2.2.2. Antecedentes Nacionales.	9
2.2.3 Antecedentes Locales.....	10
2.3. ESTADO DE LA CUESTIÓN.....	13
2.4. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS.....	14
2.4.1. ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA ESPECIE EN ESTUDIO.....	14
2.4.1.1. <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	14
2.4.2. DESCRIPCIÓN DE LA BACTERIA EN ESTUDIO	16
2.4.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.4.3. PRUEBA DE SENSIBILIDAD MICROBIANA	19
2.4.3.1. Método por Dilución en Agar	19

2.4.3.2. Método de Difusión en Agar	19
2.4.4. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTES	19
2.4.4.1. Clasificación de los antioxidantes	20
2.4.4.2. Radicales libres.....	21
2.4.4.3. Estrés oxidativo.....	21
2.4.4.4. Métodos de actividad antioxidante	21
2.4.4.5. Patrón ácido ascórbico	22
2.4.5. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA	23
2.4.5.1. Mecanismo de acción	23
2.4.6. FARMACO USADO COMO PATRÓN	24
2.4.6.1. Eritromicina.....	24
2.5. MARCO CONCEPTUAL.....	27
CAPITULO III	28
MATERIALES Y METODOS	28
3.1. MATERIALES BIOLÓGICOS:	28
3.1.1. Muestra vegetal	28
3.1.2. Muestra microbiológica	28
3.2. MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO	28
3.2.1. Materiales de Campo	28
3.2.2. Materiales de laboratorio.....	28
3.2.3. Instrumentos	29
3.2.4. Equipo de Laboratorio.....	29
3.2.5. Solventes y reactivos	30
3.2.6. Medios de cultivo para la activación de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
3.2.7. Medios de cultivo para el control microbiológico.....	30
3.2.8. Patrones.....	30
3.3. DISEÑO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN	31
3.3.1. Tipo de estudio	31
3.3.2. Diseño de la Investigación	31
3.3.3. Ensayo de la Actividad Antioxidante	31
3.3.4. Ensayo de la Actividad Antibacteriana	32
3.3.4.1. Diseño para la determinación de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	32
3.4. VARIABLE: DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL.....	33

3.4.1. Variables Implicadas:.....	33
3.4.1.1. Variable Independiente.....	33
3.4.1.2. Variables Dependientes	33
3.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y SELECCIÓN.....	36
3.5.1. Planta en estudio	36
3.5.2. Cepa bacteriana.....	36
3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	36
3.7. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS OBTENIDOS	36
3.8. PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	37
3.8.1. Procedimiento general del estudio.....	37
3.9. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL	38
3.9.1. Muestra vegetal	38
3.9.2. Obtención del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) 39	
3.9.3. Porcentaje de humedad	41
3.9.4. Porcentaje de rendimiento	41
3.9.5. Prueba de solubilidad	42
3.9.6. Análisis fitoquímico cualitativo	43
3.9.7. Actividad antioxidante	44
3.9.7.1. Método de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo	44
3.9.7.1.1. Preparación de la solución control DPPH	44
3.9.7.1.2. Preparación de solución patrón del Ácido Ascórbico	44
3.9.7.1.3. Preparación de la curva referencial.....	45
3.9.7.1.4. Medición de la actividad antioxidante del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	45
3.9.8. Control microbiológico.....	47
3.9.8.1. Control Microbiológico del Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	47
3.9.9. Actividad antibacteriana mediante el método de pozos excavados .	52
3.9.9.1. Procesamiento bacteriológico	52
CAPITULO IV	55
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	55
4.1. PORCENTAJE DE HUMEDAD	55

4.1.1. Porcentaje de humedad de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	55
4.2. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO	56
4.2.1. Porcentaje de rendimiento del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	56
4.3. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD.....	58
4.3.1. Pruebas de solubilidad del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	58
4.4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO	60
4.4.1. Análisis fitoquímico cualitativo del extracto glicólico de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) 60	
4.5. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE <i>Senna birostris</i> (MUTUY).....	62
4.5.1. RESULTADOS DEL PATRÓN ÁCIDO ASCORBICO	62
4.5.1.1. Curva de Calibración del patrón Ácido Ascórbico	62
4.5.1.2. Porcentaje de Actividad de captación del radical libre DPPH del patrón Ácido Ascórbico	63
4.5.2. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE <i>Senna birostris</i> (MUTUY).....	64
4.5.2.1. Absorbancia y porcentaje de captación del radical libre DPPH del Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	64
4.5.2.2. Curva de captación del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	66
4.5.2.3. Porcentaje de Actividad de captación del radical DPPH del Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	67
4.5.3. COMPARACIÓN DEL PORCENTAJE DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	
68	
4.5.3.1. Comparación del porcentaje de Actividad de captación del radical DPPH entre el Ácido Ascórbico y el extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	68
4.5.4. VALOR DE CONCENTRACIÓN DE INHIBICIÓN 50 (IC50 o CI50)....	70
4.5.4.1. Resultados de la comparación de la concentración de inhibición 50 (IC50 o CI50) del Ácido Ascórbico y del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	70

4.5.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE <i>Senna birostris</i> (MUTUY) ..	71
4.5.5.1. Análisis descriptivos para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	71
4.5.5.2. Análisis de Varianza (ANOVA) para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	73
4.5.5.3. Resultados de la prueba Post Hoc de Tukey para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	74
4.6. CONTROL MICROBIOLÓGICO	76
4.6.1. RESULTADOS DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE <i>Senna birostris</i> (MUTUY).....	76
4.7. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE <i>Senna birostris</i> (MUTUY)	77
4.7.1. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE <i>Senna birostris</i> (MUTUY) FRENTE A LA CEPA DE <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	77
4.7.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE <i>Senna birostris</i> (MUTUY) ..	79
4.7.2.1. Resultados del Análisis Descriptivo para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	79
4.7.2.2. Resultados del Análisis de Varianza (ANOVA) para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	80
4.7.2.3. Resultados de la Prueba Post Hoc de Tukey para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) frente a la cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	81
CONCLUSIONES.....	83
SUGERENCIAS	84
BIBLIOGRAFÍA	85
ANEXOS	94

INDICE DE TABLAS

TABLA N°1:Diseño cuasi-experimental de la actividad antioxidante.....	31
TABLA N°2:Determinación de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> :.....	32
TABLA N°3:Análisis del criterio de control microbiológico	47
TABLA N°4:Resultado del porcentaje de humedad de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	55
TABLA N°5:Resultado del porcentaje de rendimiento del Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	57
TABLA N°6:Resultado de solubilidad del Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	58
TABLA N°7:Resultado del análisis fitoquímico del Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	60
TABLA N°8:Resultado de absorbancia y porcentaje de captación del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	64
TABLA N°9:Comparación del porcentaje de inhibición entre el Ácido Ascórbico y el extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	68
TABLA N°10:Resultados de la comparación de la concentración de inhibición 50 del Ácido Ascórbico y del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	70
TABLA N°11:Resultados descriptivos de la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	71
TABLA N°12:Resultados de la Varianza (ANOVA) para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	73
TABLA N°13:Resultados de la Prueba Post Hoc de Tukey para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	74
TABLA N°14:Resultados del Control Microbiológico del Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	76
TABLA N°15:Resultado de los diámetros de los halos de inhibición del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) sobre las cepas ATCC 25923 de <i>Staphylococcus aureus</i>	77
TABLA N°16:Patrón estándar de halos de inhibición para <i>Staphylococcus aureus</i>	78

TABLA N°17:Resultados descriptivos para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) sobre la cepa ATCC 25923 de <i>Staphylococcus aureus</i>	79
TABLA N°18: Resultados de la Varianza (ANOVA) para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) sobre la cepa ATCC 25923 de <i>Staphylococcus aureus</i>	80
TABLA N°19:Resultados de la Prueba Post Hoc de Tukey para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy) sobre las cepas ATCC 25923 de <i>Staphylococcus aureus</i>	81

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1:Determinación taxonómica de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	14
FIGURA N°2:... <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	15
FIGURA N°3:Determinación taxonómica de <i>Staphylococcus aureus</i>	17
FIGURA N°4:Reacción química de (DPPH) “2,2-difenil-1-picrilhidracilo”	22
FIGURA N°5:Mecanismo de Acción de los Antibióticos.....	24
FIGURA N°6:Determinación del porcentaje de humedad	41
FIGURA N°7:Determinación del porcentaje de rendimiento	41
FIGURA N°8:Porcentaje de inhibición del radical (DPPH).....	45

INDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N°1:Resultado de la Curva de Calibración del Patrón Ácido Ascórbico.....	62
GRÁFICO N°2:Resultado del porcentaje de Inhibición del radical DPPH del Patrón Ácido Ascórbico	63
GRÁFICO N°3:Resultado de la Curva de captación del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	66
GRÁFICO N°4:Resultado del porcentaje de Inhibición del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	67

INDICE DE FLUJOGRAMAS

FLUJOGRAMA N°1: Procedimiento General.....	37
FLUJOGRAMA N°2:Obtención del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	40
FLUJOGRAMA N°3:Prueba de solubilidad del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	42
FLUJOGRAMA N°4:Análisis fitoquímico cualitativo del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	43
FLUJOGRAMA N°5:Análisis fitoquímico cualitativo del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).....	46
FLUJOGRAMA N°6:Control de calidad de los extractos concentrados en base al criterio imperativo (Salmonella)	48
FLUJOGRAMA N°7:Control de calidad de los extractos concentrados en base al criterio indicativo de higiene (Coliformes fecales)	49
FLUJOGRAMA N°8:Control de calidad de los extractos concentrados según el criterio de alerta o límites críticos (Mesófilos viables)	50
FLUJOGRAMA N°9:Control de la calidad de los extractos concentrados según el criterio de alerta o límites críticos (Hongos y levaduras)	51
FLUJOGRAMA N°10:Actividad antibacteriana por el método de pozos excavados del Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	54

ABREVIATURAS

AA	Ácido Ascórbico
DPPH	2,2-difenil-1-picrylhidracilo
RL	Radical libre
uL	Microlitros
ug	Microgramos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Infusión Cerebro Corazón
NCCLS	National Committee For Clinical Laboratory Standards
ANOVA	Análisis De Varianza

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue evaluar la actividad antioxidante y actividad antibacteriana in vitro del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Se utilizó el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) para determinar la actividad antioxidante por el método Brand – Williams y como control positivo se utilizó ácido ascórbico y para determinar la actividad antibacteriana se realizó por el método de pozos excavados.

Este extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) fue sometido al control microbiológico, para la detección de los microorganismos de Salmonella, coliformes fecales, mesófilos viables, hongos y levaduras y se encontró que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) no presentó contaminación alguna. Se realizaron pruebas preliminares obteniéndose como resultados los siguientes: La muestra vegetal de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) recolectada en el departamento de Cusco - Saqsaywaman a 3560 m.s.n.m. tiene un porcentaje de humedad de 78.15%, la solubilidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) fue parcialmente polar y el análisis fitoquímico cualitativo mostró poca cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides, muy poca cantidad de triterpenos y esteroides, saponinas y ausencia de alcaloides, taninos y quinonas. El porcentaje de rendimiento del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) es de 60.17%.

Mediante el método Brand – Williams, se determinó la actividad antioxidante obteniendo como resultado que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) presenta actividad antioxidante con un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 71% a una concentración de 100 µg/mL en comparación con el ácido ascórbico que se utilizó como control positivo que presentó un valor de 91.5% a una concentración de 10 µg/mL superior al del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy).

Mediante el método de pozos excavados se determinó la actividad antibacteriana obteniendo como resultado que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 con un halo máximo de inhibición de 9 mm a una concentración del 100% y muestra sensibilidad antibacteriana la cepa de

Staphylococcus aureus ATCC 25923 frente a Eritromicina con un halo de inhibición de 26.70 mm.

Con estos resultados obtenidos el porcentaje de inhibición del radical DPPH y halos de inhibición, se realizó la prueba de ANOVA para evaluar la diferencia significativa y se encontró que existe diferencia significativa estadísticamente entre la media de cada concentración del extracto y para ver en que grupo existe diferencia se realizó la prueba de TUKEY.

Entonces se concluye que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), presenta actividad antioxidante, una actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

PALABRAS CLAVE: *Senna birostris* (Mutuy), método de pozos excavados, *Staphylococcus aureus*, actividad antioxidante, actividad antibacteriana.

SUMMARY

The objective of this research work was to evaluate the antioxidant activity and antibacterial activity in vitro of the glycolic extract of the flowers of *Senna birostris* (Mutuy) against the strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The glycolic extract of the flowers of *Senna birostris* (Mutuy) to determine the antioxidant activity by the Brand – Williams method and ascorbic acid was used as a positive control and to determine the antibacterial activity it was carried out by the dug well method.

This glycolic extract from the flowers of *Senna birostris* (Mutuy) was subjected to microbiological control, for the detection of Salmonella microorganisms, fecal coliforms, viable mesophiles, fungi and yeasts and it was found that the glycolic extract from the flowers of *Senna birostris* (Mutuy) did not present any contamination. Preliminary tests were carried out, obtaining the following results: The plant sample of *Senna birostris* (Mutuy) flowers collected in the department of Cusco - Saqsaywaman at 3560 m.s.n.m. It has a humidity percentage of 78.15%, the solubility of the glycolic extract of the flowers of *Senna birostris* (Mutuy) was partially polar and the qualitative phytochemical analysis showed a small amount of phenolic compounds and flavonoids, very little amount of triterpenes and steroids, saponins and absence of alkaloids, tannins and quinones. The percentage yield of the glycolic extract of *Senna birostris* (Mutuy) flowers is 60.17%.

Using the Brand – Williams method, the antioxidant activity was determined, resulting in the glycolic extract of *Senna birostris* (Mutuy) flowers presenting antioxidant activity with a DPPH radical inhibition percentage of 71% at a concentration of 100 µg/mL. in comparison with ascorbic acid that was used as a positive control, which presented a value of 91.5% at a concentration of 10 µg/mL higher than that of the glycolic extract of *Senna birostris* (Mutuy) flowers.

Using the dug well method, the antibacterial activity was determined, resulting in the glycolic extract of *Senna birostris* (Mutuy) flowers presenting antibacterial activity against the strain of *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923 with a maximum inhibition zone of 9 mm at a concentration of 100% and the strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 shows antibacterial sensitivity against Erythromycin with an inhibition zone of 26.70 mm.

With these results obtained, the percentage of inhibition of the DPPH radical and inhibition zones, the ANOVA test was carried out to evaluate the significant difference and it was found that there is a statistically significant difference between the mean of each concentration of the extract and to see in which group it exists. difference, the TUKEY test was performed.

It is then concluded that the glycolic extract of *Senna birostris* (Mutuy) flowers presents antioxidant activity, antibacterial activity against the strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

KEYWORDS: *Senna birostris* (Mutuy), dug-well method, *Staphylococcus aureus*, antioxidant activity, antibacterial activity.

INTRODUCCIÓN

En el Perú encontramos una alta diversidad de especies vegetales, las cuales son empleadas por la medicina tradicional para curar o aliviar una serie de dolencias en el hombre. El uso y manejo de las plantas medicinales nativas se basa principalmente en el conocimiento de la medicina tradicional desde la antigüedad (1). El 80% de la población mundial cree en la medicina tradicional, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), y con el conocimiento de las plantas medicinales nativas y sus usos medicinales, los medicamentos pueden ser reemplazados localmente y la población los puede aceptar sin problemas.(2). Esto ha permitido que el uso de las plantas medicinales tienen valor como coadyuvante en el tratamiento de algunas enfermedades junto con los medicamentos (3). Por lo tanto, es muy importante la investigación y desarrollo de sustancias antioxidantes y antibacterianas que ayuden a combatir los radicales libres y los microorganismos de manera más efectiva. Por lo tanto, las propiedades medicinales de las plantas podrían ser atribuidas a su actividad antioxidante y antibacteriana, que pueden usarse para desarrollar nuevos medicamentos.(4).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antioxidante y actividad antibacteriana de *Senna birostris* (Mutuy), planta usada tradicionalmente en la región del Cusco, las hojas de esta especie son trituradas y colocadas para curar heridas, la infusión de hojas se usa como purgante y las semillas en forma de emplastos para quemaduras.(5). Su uso en problemas de la piel es bastante aceptado por las comunidades de la serranía donde crece, no existe aún un estudio que avale la posible actividad antibacteriana de los componentes de sus flores frente a *Staphylococcus aureus*, bacteria frecuentemente aislada de pieles acneicas, y tampoco existe evidencia cierta de su posible actividad antioxidante, por lo que, realizar una investigación sobre la actividad antioxidante y antibacteriana del extracto glicólico de las flores de esta especie vegetal permitiría validar su uso en el futuro.

CAPITULO I

ASPECTOS GENERALES

1.1. Planteamiento del problema

El aumento indebido de radicales libres en nuestro cuerpo, especialmente a nivel del metabolismo celular ha sido implicado en el desarrollo de enfermedades autoinmunes, cáncer y otras enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares (6). La investigación y búsqueda de nuevos compuestos bioactivos, como los antioxidantes naturales de las plantas utilizadas en la medicina tradicional, contribuirá a una mejor calidad de vida y evitará patologías crónicas, degenerativas por acción de los radicales libres.(7). Por otro lado, los antioxidantes sintéticos, vienen siendo cuestionados debido a su capacidad para promover tumores, lo que ha llevado también a la búsqueda y utilización de compuestos antioxidantes de origen natural. (7). La posibilidad de encontrar este tipo de compuestos bioactivos no sería posible si no se hubieran realizado investigaciones en plantas medicinales que principalmente tienen su origen en la información etnobotánica. (7)

Se reconoce que las plantas medicinales son una fuente muy importante para la investigación y búsqueda de nuevos compuestos bioactivos con potencial actividad antibacteriana, y este es un reto cada vez más creciente debido al desarrollo de cepas de bacterias resistentes a los antibióticos usados actualmente, y teniendo en cuenta que, son muchos los metabolitos secundarios presentes en las plantas cuyas estructuras químicas sugieren una interacción con los receptores en las células bacterianas (7). Respecto a patologías causadas por *Staphylococcus aureus*, esta bacteria puede provocar infecciones cutáneas localizadas hasta infecciones sistémicas más graves.(8).

En ese sentido, buscando información sobre el uso tradicional de la especie *Senna birostris* en nuestra localidad se ha encontrado que, esta es una planta cuyas hojas se usan trituradas y en forma de emplastos para curar heridas en la piel.(5). No habiendo reporte del uso de extractos de sus flores, cuyo color característico hace presumir la presencia de metabolitos tipo flavonoides, que han sido relacionados con actividades antioxidante y antibacteriana. Por tal razón se ha seleccionado la especie *Senna birostris* (Mutuy) para determinar la actividad antioxidante y antibacteriana in vitro frente a la cepa de *Staphylococcus*

aureus ATCC 25923, permitiendo tener de esa manera una alternativa natural en el tratamiento antioxidante y antibacteriano.

1.2. Formulación del problema

¿Presentará el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), actividad antioxidante y actividad antibacteriana in vitro frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

1.3. Objetivo

1.3.1. Objetivo General

- Evaluar la actividad antioxidante y actividad antibacteriana in vitro del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.3.2. Objetivos Específicos

1. Determinar el porcentaje de humedad, realizar las pruebas de solubilidad y análisis fitoquímico cualitativo del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy).
2. Determinar el porcentaje de rendimiento del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy).
3. Determinar la actividad antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) por el método de captación del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)
4. Determinar la sensibilidad bacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 por el método de pozos excavados, utilizando como patrón Eritromicina.

1.4. Justificación e importancia del estudio

1.4.1. Conocimiento

Las plantas medicinales son utilizadas en nuestras comunidades y es importante tener en cuenta estos conocimientos ancestrales, los cuales deben ser validados para poder lograr conocimiento científico sobre las propiedades antioxidante y antibacteriana de la especie vegetales *Senna birostris* (Mutuy).

Por lo tanto, es importante señalar que esta investigación tiene como objetivo dar un aporte de información al conocimiento de la actividad antibacteriana de *Senna birostris* (Mutuy) para validar el uso tradicional y terapéutico frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*, microorganismo causante de diversas infecciones, especialmente de la piel. Por otro lado, los principios activos antioxidantes presentes en las flores de esta especie vegetal, podrían ser de gran interés en el estudio de antioxidantes naturales.

1.4.2. Prioridad

En los últimos años, el aumento de la resistencia bacteriana y enfermedades asociadas con los radicales libres que conllevan al desarrollo de muchas enfermedades crónicas y la necesidad de contar con moléculas de origen natural ha motivado la investigación de plantas con componentes polifenólicos, especialmente flavonoides. Por lo tanto, en nuestra investigación estamos motivados en encontrar una nueva alternativa de sustancias antioxidante y antibacteriano de origen vegetal.

1.4.3. Práctica.

El estudio de las plantas es importante porque son muy utilizadas en la medicina tradicional y muchas se utilizan para tratar enfermedades de la piel.

El extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) podría incluirse en productos cosméticos y fitoterapéuticos, que serán útiles como medida curativa contra enfermedades causadas por la bacteria *Staphylococcus aureus* contribuyendo al tratamiento de la medicina tradicional.

1.4.4. Aspecto Social.

El aporte de esta investigación sobre la actividad antioxidante y antibacteriana de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy) está dirigido a promover y revalorar el uso tradicional de nuestros recursos naturales para combatir enfermedades causadas por microorganismos patógenos y agentes oxidantes, por lo que esta

investigación busca encontrar nuevos compuestos bioactivos a partir de una fuente de materia prima natural y más económica. Considerando que el tratamiento de enfermedades a base de plantas es muy difundido en las comunidades para generar un desarrollo económico sostenible y que la fitoterapia cada vez más sea integrada en el mercado local, nacional e internacional.

1.5. Hipótesis

El extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) presenta actividad antioxidante frente al radical libre DPPH y actividad antibacteriana in vitro frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1. Visión Histórica

En el antiguo Perú la especie vegetal *Senna birostris* era denominado como “Mutuy” por sus numerosas virtudes y propiedades para el hombre andino.

Los antiguos peruanos cultivaron este arbusto silvestre en la sierra y costa del Perú, especialmente en quebradas, pampas húmedas, bordes de caminos y en una variedad de tipos de suelo. Las hojas de este arbusto son utilizadas por los pobladores de las comunidades peruanas en forma de emplasto para aliviar el dolor y curar heridas en la piel.(9)..En el departamento de Cusco, la especie vegetal de “Mutuy” crece en Saqsaywaman a 3560 m.s.n.m. donde la población local utiliza hojas y flores como emplasto para aliviar torceduras, fracturas, dolor de cabeza, fiebre, calor interno, heridas en la piel y para tratar el herpes.(10). La flor de la especie vegetal de “Mutuy” se utilizan como infusión o mate para aliviar la fiebre, fiebre interna y el dolor de cabeza.(9). Gracias a estos conocimientos que mantienen los pobladores peruanos, hoy en día podemos beneficiarnos a través del uso de plantas medicinales. (9).

2.2. Antecedentes del estudio

2.2.1. Antecedentes Internacionales

- **Towanou, et al., (2023). Compuestos fitoquímicos, actividad antioxidante y toxicidad aguda del extracto de *Senna italica* utilizado en la medicina tradicional (11).**

Objetivo: Se evaluó los compuestos fitoquímicos, actividad antioxidante y toxicidad aguda del extracto de *Senna italica* utilizado en la medicina tradicional.

Metodología: Los extractos alcohólico y acuoso se obtuvieron mediante maceración y decocción, respectivamente. Se utilizó un ensayo de eliminación de radicales libres para probar la actividad antioxidante utilizando DPPH. La toxicidad oral aguda se evaluó utilizando extractos acuosos y etanólicos a 5000 mg/kg de peso corporal en ratas albinas Wistar hembra con un peso de $152,44 \pm 3,68$ g.

Resultados: El análisis fitoquímico reveló la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides y derivados de quinonas. El extracto etanólico (9,7 µg/mL) y acuoso (9,2 µg/mL) presenta una interesante

actividad antioxidante. Los valores de IC50 de las hojas de *Senna italica* de los diferentes extractos revelaron que el extracto acuoso de esta planta fue el más activo con un valor de IC50 igual a 10 µg/mL y por el extracto etanólico con un valor de IC50 igual a 78 µg/mL.

Conclusiones: El extracto de las hojas de *Senna itálica* presentó actividad antioxidante y no produjeron ningún efecto tóxico de mortalidad.

- **Prasathkumar et al., (2021). Compuestos fitoquímico y propiedades antibacterianas, antioxidantes, antiinflamatorias, antidiabéticas y cicatrizantes in vitro de las hojas de *Senna auriculata* (L.) Roxb (12).**

Objetivo: Se determinó los compuestos fitoquímicos totales, así como la actividad antibacteriana, antioxidante, antiinflamatoria, antidiabética y cicatrizante in vitro del extracto de las hojas de *Senna auriculata* (L.) Roxb.

Metodología: Las hojas pulverizadas se sometieron a extracciones sucesivas con éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo, metanol y agua usando un aparato soxhlet a 40° C durante 6-8 h.

Se cuantificó el total de polifenoles usando el método de Folin-Ciocalteu. Se estableció que la actividad antibacteriana por el método de difusión en agar frente a bacterias Grampositivas como *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* (MRSA) y bacterias Gramnegativas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*. La actividad antioxidante se evaluó usando el método de decoloración del radical DPPH y del radical ABTS. La actividad antiinflamatoria in vitro fue medida en un modelo de la inhibición de la desnaturalización de la proteína albúmina bovina. La actividad antidiabética fue medida usando el método de inhibición de la α-amilasa y α-glucosidasa. Finalmente, la actividad cicatrizante fue evaluada usando el ensayo in vitro de raspado de heridas en cultivos celulares.

Resultados: El mayor porcentaje de extracción se logró con el metanol (39,9%), éste también tuvo mayor contenido de alcaloides, flavonoides, fenoles y taninos. La actividad antioxidante del extracto metanólico presenta valores de ABTS (valor IC50 de 224,2 µg/mL) y DPPH (valor IC50 de 76,24 µg/mL) de una manera dependiente de la concentración. Además, el extracto metanólico demostró actividad antiinflamatoria significativa a dosis variadas con un valor IC50 de 55,7 mg/mL. Se determinó la actividad antibacteriana del extracto metanólico frente a todos los patógenos indicados utilizando un

ensayo de difusión en pozos de agar que mostró actividad potencial contra valores de 49,45 y 38,72 µg/mL.

Conclusión: Este estudio demostró las actividades biológicas de las hojas de *Senna auriculata* que presento propiedades antibacteriano, antioxidante, antiinflamatorio, antidiabético y cicatrizante.

- **Madankumar, et al., (2020). Capacidad antioxidante y anticancerígena in vitro de *Senna alata* y *Senna hirsuta*.(13)**

Objetivo: Se evaluó la capacidad antioxidante y anticancerígena in vitro de *Senna alata* y *Senna hirsuta*.

Metodología: El ensayo in vitro se analizó para el extracto metanólico de hojas de *Senna alata* y *Senna hirsuta* y como metodología se utilizó la eliminación de radicales libres de DPPH.

Resultados: El extracto metanólico probado mostro buenas propiedades de eliminación de radicales libres de DPPH con valores correspondientes de IC50 para *Senna alata* que fue de 383.27 µg/ml y *Senna hirsuta* que fue de (666.38 µg/ml).

Conclusión: Este estudio demostró la actividad antioxidante y anticancerígena de las hojas de *Senna alata* y *Senna hirsuta*.

- **Lombardo M. et al., (2015). Evaluación de la actividad antibacteriana in vitro de *Senna occidentalis* (L.) ((14).**

Objetivo: Se evaluó la actividad antibacteriana de los extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Senna occidentalis*.

Metodología: Se preparó extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Senna occidentalis* a partir de diferentes partes de la planta. El extracto hidroalcohólico de las partes aéreas se obtuvo con etanol al 75% por percolación lenta a temperatura ambiente. El extracto etanólico se evaporó a 40°C en un rotavapor y se liofilizó. El extracto hidroalcohólico de las semillas se obtuvo en las mismas condiciones descritas anteriormente. A continuación, las semillas se maceraron con 10% (p/v) de tampón fosfato (0,2 M; pH 7,3) durante 12 h a 4°C agitando para obtener el extracto acuoso de semillas. La actividad antibacteriana se evaluó frente a los siguientes microorganismos: Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, cepa de *Escherichia coli* ATCC 8739, cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027,

cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 y cepa de *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 usando el método de microdilución.

Resultados: Las partes aéreas y las semillas contienen flavonoides. En el extracto de las semillas además se encontraron proteínas y péptidos. Ninguno de los extractos mostró actividad frente a *C. albicans*, el extracto hidroalcohólico de las semillas inhibió moderadamente a *A. brasiliensis*, a *S. aureus* (47%), *E. coli* (35%) y *P. aeruginosa* (78%). En tanto que, el extracto hidroalcohólico de las partes aéreas mostró actividad contra *S. aureus* (52%) y *P. aeruginosa* (59%), pero *E. coli* no fue inhibida por este extracto.

Conclusiones: El extracto hidroalcohólico de las semillas demostró un espectro antimicrobiano más amplio, principalmente frente a *Pseudomonas aeruginosa*.

- **Macedo E.M.S. (2006). Estudio químico de plantas del Nor este con actividad antioxidante: *Senna martiana* (Benth) (15).**

Objetivo: Se determinó la composición química de las hojas, flores y tallos de *Senna martiana* (Benth) Irw. Y Barn. y evaluar la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de las partes de la planta mencionadas.

Metodología: El estudio fitoquímico de la planta se realizó mediante métodos como la cromatografía de adsorción en columna abierta (OC); cromatografía en capa fina (CDC), y en la determinación de las estructuras se usaron técnicas espectroscópicas como: absorción en la región infrarroja (IR), Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno (RMN 1H), Resonancia Magnética Nuclear de (Carbono 13) unidimensional y bidimensional (RMN 13C). La extracción de los constituyentes volátiles se realizó por hidrodestilación utilizando un horno microondas como fuente de calentamiento y para la evaluación de la actividad antioxidante se utilizó el método DPPH.

Resultados: Los estudios cromatográficos del extracto etanólico del tallo de *Senna martiana* permitió el aislamiento e identificación del ácido triacontanoico (ácido melísico), beta-sitosterol y 3 antraquinonas 1,8-dihidroxiladas, crisofanol, fisiona y aloe-emodina. También, el extracto hidroalcohólico de las flores de *S. martiana* mostró un porcentaje de inhibición del radical DPPH del 96.1%.

Conclusiones: El extracto hidroalcohólico de las flores de *Senna martiana* mostró un promisorio potencial antioxidante.

2.2.2. Antecedentes Nacionales.

- **Chuquilín-Goicochea et al., (2021). Caracterización química y reológica del hidrocoloide de *Senna birostris* (16).**

Objetivo: Se determinó la caracterización química y reológica del hidrocoloide *Senna birostris* procedente de la región de Acobamba, Huancavelica.

Metodología: Los hidrocoloides se extrajeron mediante el método de tostado (se tomaron las semillas a 90 °C por 15 min) y luego moliendo. Se determinó la humedad, ceniza, grasa, proteína, fibra y carbohidratos. Se realizó la caracterización reológica y de viscosidad.

Resultados: Se encontró que la composición química más cercana a 100 g de hidrocoloide es: 10.37 % de humedad, 6.61 % de grasa, 1.96 % de ceniza, 69.60 % de carbohidratos, 2.15 % de fibra, 9.31 % de proteína y 357.75 kcal. Se determinaron las propiedades reológicas del hidrocoloide al 1%, 2% y 3%, determinando un tipo de flujo de dilatación ($n > 1$) y el coeficiente de consistencia (KOW) de 2.9778×10^{-4} y 1.4491×10^{-3} respectivamente, a 25°C.

Conclusiones: Los resultados demostraron buenas características para la aplicación de este hidrocoloide en la agroindustria y en la industria farmacéutica.

- **Campos Arcce, R. (2016). Contenido de antraquinonas en hojas y flores de *Senna alata* “mutuy” y *Senna birostris* “mutuy” (17).**

Objetivo: Se determinó el contenido de antraquinonas en hojas y flores de *Senna alata* y *Senna birostris* mediante el método espectrofotométrico.

Metodología: La cuantificación de 1,8-dihidroxiantraquinona se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Resultados: El contenido total de antraquinonas en flores y hojas de *Senna alata* fue de 0,0345 y 0,0662%, respectivamente; mientras que en flores y hojas de *Senna birostris*, fueron 0,0189 y 0,0333%, respectivamente.

El análisis cuantitativo por HPLC de 1,8-dihidroxiantraquinona mostró que las flores y hojas de *Senna alata*, contienen 11.236 y 57.559 µg/g

respectivamente; y *Senna birostris*, contenían 20,574 y 2,222 µg/g, respectivamente.

Conclusión: Las hojas de *Senna alata* y *Senna birostris* se caracterizan por un alto contenido de antraquinonas, por lo que pueden ser una fuente importante de uso en la industria farmacéutica.

- **Huamán Palomino, R. (2013). Actividad antioxidante e hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senna alata* L. "mutuy".(18)**

Objetivo: Se determinó la actividad antioxidante e hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senna alata* L. "mutuy".

Metodología: La determinación de la actividad antioxidante se desarrolló mediante el método del radical libre DPPH. Todas las muestras fueron activas al decolorar el DPPH, con una actividad de 95.8 %, 94 % y 53.4 % a concentraciones de 100, 50 y 10µg/ml.

Resultados: Se comparó con los estándares del ácido ascórbico en las mismas concentraciones y poseen actividad de 99.1%, 98.4 %, 99%. A cinco horas del tratamiento el porcentaje de actividad hipoglucemiante a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg del extracto fue de 60,6 %, 72,4 % y 55,6 % respectivamente y 70 % para el estándar existiendo estadísticamente diferencia significativa.

Conclusión: Los resultados demostraron que el extracto hidroalcohólico posee actividad antioxidante y actividad hipoglucemiante.

2.2.3 Antecedentes Locales

- **Dueñas Huanca, G et al., (2022). Estudio etnobotánico de plantas útiles en la comunidad campesina de Acopia, Acomayo, Cusco (19).**

Objetivo: Se evaluó el estudio etnobotánico de plantas útiles en la comunidad campesina de Acopia, para conocer sus usos y determinar las categorías de amenaza.

Metodología: Se recolectaron todas las especies de plantas útiles y se realizó una encuesta etnobotánica calculando los índices: Frecuencia relativa de cita (CFR) y valor de uso (VU), lo que permite identificar los estados de amenaza según los criterios de la IUCN.

Resultados: Acopia tiene 141 especies de plantas útiles pertenecientes a 100 géneros y 53 familias. Las familias más ricas son Asteraceae (25

especies), Poaceae (9) y Fabaceae (8). Todas las plantas útiles encontradas pertenecen al menos a uno de los 11 tipos de uso, los más destacados son: Medicinal (125 especies), Alimenticio para animales domésticos (88) y Cultural (47).

Conclusiones: La especie con mayor valor uso (VU) en la comunidad de Acopia es *Senna birostris*. La riqueza de las plantas útiles en Acopia es alta, pero sus poblaciones están amenazadas por los incendios y la falta de interés por valorizarlas por parte de los jóvenes de comunidad campesina de Acopia.

- **Colque Chevarría, O. V. (2016). Evaluación etnobotánica en las comunidades de Choquepata y Tipón, distrito de Oropesa, provincia de Quispicanchi-Cusco (20).**

Objetivo: Se evaluó el estudio etnobotánico con la finalidad de documentar y rescatar el conocimiento ancestral que posee la comunidad de Choquepata, ubicada en el distrito de Oropesa, provincia de Quispicanchi-Cusco.

Metodología: Se realizó una colecta de las especies vegetales siguiendo un gradiente desde los 3155 a 4000 m de altitud y durante los meses de enero a marzo.

Resultados: Se registraron 259 especies de plantas, distribuidas en 70 familias y 186 géneros. Se realizaron encuestas estructuradas y semiestructuradas sobre el uso de las plantas de forma aleatoria a 78 pobladores de entre 10 y 75 años. Las plantas con alto un valor de uso (VU) fueron *Xanthium spinosum* (Alqokiska) y *Senna versicolor* (Mutuy).

Conclusiones: La especie importante en la etnobotánica de la comunidad de Choquepata es la *Senna versicolor* (Mutuy).

- **Achahuanco Casa, Miriam Nohely y Aragón Portugal Patricia. (2015) Actividad antibacteriana In Vitro de los extractos Etanólico y Glicólico de las hojas de la especie vegetal *Flourensia Polycephala* MO Dillon (Phauca) sobre cepas ATCC de *Staphylococcus aureus* y *Propionibacterium acnes*, y su relación con la actividad antioxidante (21).**

Objetivo: Se determinó la actividad antibacteriana in vitro de los extractos Etanólico 70% y Glicólico de las hojas de la especie vegetal *Flourensia Polycephala* M. O. Dillon (Phauca) sobre las cepas de *Staphylococcus aureus* y *Propionibacterium acnes* ATCC y evaluó la actividad antioxidante.

Metodología: La actividad antibacteriana se determinó por el método de pozos excavados. La capacidad antioxidante se determinó por el método de decoloración del DPPH.

Resultados: La concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto etanólico sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Propionibacterium acnes* ATCC 6919 fue de 0.368mg/25µL y 0.34mg/25µL, respectivamente. Y los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) del extracto glicólico sobre la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Propionibacterium acnes* ATCC 6919 fue de 0.13mg/25µL y 0.84mg/25µL, respectivamente. El diámetro de halo de inhibición de *Staphylococcus aureus* para el extracto etanólico y glicólico fue de 18.43mm. y 14.43mm, respectivamente y para *Propionibacterium acnes* fue de 12.39mm y 11.50mm respectivamente. La actividad antioxidante se demostró por el método de la decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) donde presentan valores de 93.97% para el extracto etanólico y 89.86% para el extracto glicólico. La relación entre la actividad antibacteriana y actividad antioxidante mediante la correlación lineal de Pearson (R^2) en concentraciones de 0.5mg/ml, 0.8 mg/ml, y 1mg/ml, los valores fueron de $r=0.983$ y $r=0.987$ para el extracto etanólico; $r=0.998$ y $r=0.981$ para el extracto glicólico.

Conclusión: Los extractos etanólico y glicólico mostraron actividad antibacteriana in vitro sobre las cepas en estudio en comparación con el fármaco patrón, y mostraron una alta correlación directa entre la actividad antibacteriana y actividad antioxidante.

2.3. ESTADO DE LA CUESTIÓN

El género *Senna* Mill., a través de numerosos estudios ha sido reconocido por sus propiedades antimicrobianas (14). Muchas especies de *Senna* han sido ampliamente utilizadas durante mucho tiempo por grupos étnicos americanos, africanos e indios, principalmente para tratar la debilidad, el estreñimiento, las enfermedades hepáticas y las infecciones de la piel.(14).

En la medicina popular brasileña, las hojas y semillas de *Senna occidentalis* son conocidas y utilizadas como antifúngico tópico, especialmente en el tratamiento de heridas e infecciones cutáneas por hongos como la tiña corporal y las erupciones cutáneas causada por el hongo *Pitiriasis versicolor*.(22)

En el Perú, especialmente en la región andina crece *Senna birostris*, un arbusto con llamativas flores amarillas, comúnmente llamado (Mutuy). Luego de una investigación bibliográfica, se encontró que la información sobre la composición fitoquímica y farmacológica de esta especie es limitada. Sin embargo, existe información sobre el uso tradicional de *Senna birostris* en países como Cuba, Camerún, India, Brasil y otros como febrífugo, antianémico, antiblenorrágico, antimicótico, antiparasitario, diurético, laxante, como remedio en enfermedades de la piel y en el tratamiento del herpes, (23) y en la región del Cusco, las hojas de esta especie se trituran y se usan para curar heridas, una infusión de las hojas se usa como laxante y las semillas se usa como emplasto para quemaduras.(5)

En la región de Cusco, se han desarrollado trabajos de investigación relacionados con la recopilación de información etnobotánica en las provincias de Acomayo (19) y Quispicanchi (20), en ambos casos se ha establecido que existen especies de *Senna* que crecen y sobretodo que son muy útiles a las comunidades, las dos especies que fueron identificadas en estas provincias son *Senna birostris* en la comunidad de Acopia (Acomayo) y *Senna versicolor* en las comunidades de Choquepata (Oropesa, Quispicanchi). Queda claro que, la investigación fitoquímica y farmacológica de especies de *Senna* y especialmente de *Senna birostris* es importante.(20)

2.4. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

2.4.1. ASPECTOS BOTÁNICOS DE LA ESPECIE EN ESTUDIO

2.4.1.1. *Senna birostris* (Mutuy)

2.4.1.1.1. Generalidades

La especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy) es un arbusto de la familia de las Fabaceae, de 2 a 5 m de altura, de 15 a 40 cm de diámetro, con copa globosa y un denso follaje oscuro.(10). Se encuentra en toda la región andina del Perú, en quebradas húmedas, pampas, bordes de caminos y en diferentes suelos, y crece a una altitud entre 500 y 4000 m.s.n.m. Florece, principalmente entre junio a setiembre.(10)

2.4.1.1.2. Clasificación taxonómica

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Equisetopsida
Subclase	: Magnoliidae
Superorden	: Rosanae
Orden	: Fabales bromhead
Familia	: Fabaceae Lindl.
Género	: Molino Sena .
Especie	: <i>Senna birostris</i>

FIGURA N°1: Clasificación taxonómica de *Senna birostris* (Dombey ex Vogel) H.S. Irwin & Barneby “Mutuy”

Fuente: Herbario Vargas CUZ – UNSAAC. (ANEXO 1)

2.4.1.1.3. Partes de la especie vegetal de *Senna birostris* (Mutuy)

- **Tallo:** De color marrón claro.
- **Hojas:** Compuestas paripinnadas, alternas, en forma de espiral. Su tamaño vario entre 10 y 20 cm de largo. Tienen de 12 a 15 pares de foliolos elípticos, cada uno de 2 a 3 cm de largo y de 6 a 10 mm de ancho, con un ápice agudo. (10)

- **Flores:** Miden 2 - 3 cm de largo, son de color amarillo y con un racimo alargado. Tiene un cáliz con 5 sépalos y una corola de 5 pétalos. Son hermafroditas con pistilos y ovarios de 2 a 4 mm de largo.(10)
- **Fruto:** La legumbre mide de 7 a 11 cm de largo y de 1.5 a 2 cm de ancho, con un borde de 2 mm, de color verde oscuro a marrón cuando está maduro. Cada fruto contiene de 4 a 10 semillas por vaina.(10)

En el departamento de Cusco se encuentra la planta de *Senna birostris* (Mutuy) en Saqsaywaman, creciendo a una altura de 3560 m.s.n.m y que florece en la época de lluvia entre enero a abril.



FIGURA Nº2: *Senna birostris* (Dombey ex Vogel) H.S. Irwin & Barneby
“Mutuy”

Fuente: Huaman Rimachi J.J. Cusco - Saqsaywaman, 2024

2.4.1.1.4. Nombre científico y común de la especie vegetal

- **Nombre científico:** *Senna birostris* (Dombey ex Vogel) H.S. Irwin & Barneby.
- **Nombre común:** Mutuy, pacte, motuy, saligua.
- **Sinónimo:** *Cassia birostris* Dombey ex Vogel H.S. Irwin & Barneby.

2.4.1.1.6. Usos tradicionales

- Fiebre interna, se utilizan las flores (se toma como mate).
- Dolor de cabeza, se utilizan las hojas (hacer hervir y lavarse la frente).
- Fiebre, se utilizan las hojas (se toma como mate).
- Fracturas, se utilizan las hojas en forma de emplastos.
- Heridas, se utilizan las hojas molidas y se pone encima del área de afección.
- Herpes, se utilizan las hojas (se frotran las hojas tiernas sobre la parte afectada).(9)

2.4.2. DESCRIPCIÓN DE LA BACTERIA EN ESTUDIO

2.4.2.1. *Staphylococcus aureus*

2.4.2.1.1. Generalidades

El género *Staphylococcus aureus* es un microorganismo descubierto por el cirujano escocés Alexander Ogston en 1880, quien le dio el nombre de *Staphylococcus*, del griego “*Staphylo*”, que significa racimos de uvas, y en 1884, el cirujano alemán Anton Rosenbach identifico dos cepas de la bacteria *Staphylococcus* y las nombro de acuerdo a la pigmentación que producían: *Staphylococcus aureus*, del latín “*aurum*” que significa de color oro, y *Staphylococcus albus*, del latín “*albus*” que significa de color blanco.

Es una bacteria anaerobia facultativa clasificados como cocos Gram (+), β -hemolítico, catalasa y coagulasa positivo, y miden entre 0,5 y 1,5 micrómetros (μm) de diámetro. Este organismo se ha descrito como parte de la flora normal de los seres humanos y se encuentra principalmente en la piel, la nasofaringe, las axilas y la ingle. Sin embargo, se sabe que este patógeno causa infecciones en la piel y los tejidos blandos (músculos, tendones, tejido graso, vasos sanguíneos) y también está asociado con enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).(24)

2.4.2.1.2. Clasificación científica

TAXONOMIA	
Reino	: Procariota
División	: Bacteria
Sección	: Cocos gram positivo
Clase	: Bacilli
Orden	: Bacillales
Familia	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genero	: <i>Staphylococcus</i>
Especie	: <i>Staphylococcus aureus</i>

FIGURA N°3: Clasificación científica de *Staphylococcus aureus*

Fuente: Microbiología y Parasitología. Silva (2007).(25)

2.4.2.1.3. Patogenicidad

El principal huésped del *Staphylococcus aureus* son los humanos, que se encuentran en los portadores sanos, especialmente en las fosas nasales y también en pacientes infectados. La infección ocurre en la membrana mucosa nasal, orofaringe, epidermis, úlceras cutáneas y heridas en proceso de cicatrización. Los *Staphylococcus aureus* tiene varios determinantes patógenos (cápsula mucoide, peptidoglucano, ácidos teicoicos, proteína A, coagulasa, catalasa, hialuronidasa, estafiloquinasa, lipasa, hemolisinas, leucocidina, Toxina exfoliativa, enterotoxinas y toxinas de shock toxico en el cuerpo) finalmente conduce a una infección. Además, *Staphylococcus aureus* interactúa con múltiples receptores del huésped a través de diferentes componentes superficiales. También tiene una excelente capacidad para adherirse a una amplia variedad de sustratos in vitro.(26)

2.4.2.1.4. Identificación

La identificación del *Staphylococcus aureus* se realiza mediante el método de Tinción Gram, pruebas bioquímicas como la prueba de catalasa, prueba de coagulasa y hemólisis, que permiten distinguir el tipo de *Staphylococcus aureus*.(27). El *Staphylococcus aureus* crece muy bien en medios de cultivos no selectivos como el agar sangre, Caldo Brain Heart Infusion (BHI) y agar chocolate.(28)

En 1994 se desarrolló un nuevo método para la determinación de *Staphylococcus aureus*, basado en la detección fluorogénica de coagulasa incorporando al medio sustratos cromogénicos: fosfatasa alcalina y β -galactosidasa.(28)

Gaillot probó recientemente un método cromogénico muy específico para identificar *Staphylococcus aureus* basado en la formación de colonias de color púrpura pálido (colonia malva) tras 18 horas de incubación. Este método se caracteriza por tener una mayor especificidad y sensibilidad que otros métodos convencionales, lo que permite la recolección o aislamiento de muestras clínicas que no se pueden detectar en agar sangre.(28)

2.4.2.1.5. Tratamiento

Debido a que los *Staphylococcus* son altamente resistentes a la penicilina, se deben usar penicilinas resistentes a la penicilina: (metecilina, oxaciclina, nafcilina, dicloxacilina),cefalosporinas:(cefalotina,cefazolina),aminoglucósidos:(gentamicina), lincosamidas: (lincomicina, clindamicina), macrolidos: (eritromicina), glicopéptidos: (vancomicina), ya que la mayoría de las cepas son susceptibles.(28)

2.4.3. PRUEBA DE SENSIBILIDAD MICROBIANA

2.4.3.1. Método por Dilución en Agar

Este método nos permite conocer la concentración exacta que debe tener una bacteria para presentar una inhibición y poder determinar su acción bactericida y bacteriostática. Se obtienen colonias activas que son inoculadas en un medio específico para luego ser incubados. Luego se hacen diluciones, se añaden y se cultivan pequeñas colonias activas, produciendo la cantidad mínima de antibiótico necesaria para "inhibir" o "matar" la cepa bacteriana en estudio. La desventaja es el tiempo de uso, lo que en algunos casos dificulta su uso y sea más limitado, por otro lado, la principal ventaja de esta prueba es que garantiza la concentración correcta y precisión del efecto del fármaco contra las bacterias para asegurar que el crecimiento bacteriano se inhibida o que las bacterias mueran durante el tratamiento.(29)

2.4.3.2. Método de Difusión en Agar

El uso de este método de (Kirby Bauer) en los Estados Unidos (EE. UU) en 1966 es la prueba más utilizada en microbiología porque proporciona diámetro de halos de inhibición más precisos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) publica normas que deben incluirse en el procedimiento.(29). Las Cepas ATCC deben obtenerse de un "cultivo puro" y deben ser "agentes etiológicos", cada disco en particular debe tener entre 5 - 7 mm de diámetro y 0.02 milímetros (mm) de espesor. El volumen máximo es de 10 μ L y permite que los halos de inhibición no superen los 40 milímetros (mm). Deben almacenarse a 4°C o según las instrucciones del fabricante y deben alcanzar 4 milímetros (mm) de difusión del fármaco. Omitir este paso dará como resultado lecturas erradas y la formación halos inhibitorios.(29)

2.4.4. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los antioxidantes son moléculas que pueden prevenir la oxidación de otras moléculas (30). La oxidación es una reacción química en la que se transfieren electrones de una sustancia a otra. La reacción química de una oxidación produce radicales libres, que provocan una reacción que destruye las células. Los antioxidantes detienen las reacciones eliminando los mediadores de radicales libres e inhibiendo otras reacciones oxidativas por oxidación

espontanea. Por esta razón, los antioxidantes suelen ser agentes reductores como los tioles y los polifenoles.(30).

Los antioxidantes son moléculas que previenen o retrasan la oxidación de los sustratos porque se presentan en concentraciones mucho más bajas que los sustratos biológicos, que se oxidan fácilmente. Los compuestos antioxidantes tienen estructuras químicas que son adecuadas para reaccionar fácilmente con los radicales libres, por lo que esta reacción hace que los radicales libres pierden su reactividad debido a esta interacción y que los antioxidantes se oxiden, haciéndolos menos efectivos para el medio ambiente y se vuelven mucho más estables.(30).

Los antioxidantes interactúan con los radicales libres y reducen el daño causado por los radicales libres en el cuerpo. Algunos de estos antioxidantes son producidos por el cuerpo humano o se encuentran en los alimentos. (30)

La mayoría de los flavonoides tienen la capacidad de responder a los radicales libres y ejercer una actividad antioxidante en el cuerpo.(30)

2.4.4.1. Clasificación de los antioxidantes

Como vimos anteriormente, los radicales libres puede dañar las células tanto externa como internamente. Por este motivo se clasifican los antioxidantes cuyas funciones principales en las células son extracelulares e intracelulares.(29)

2.4.4.1.1. Antioxidantes primarios

Los antioxidantes primarios son producidos en nuestro cuerpo y se sintetizan en la célula. Por ejemplo: las enzimas glutatión peroxidasa, catalasa, superóxido dismutasa y glutatión. La principal función de los antioxidantes primarios es prevenir la formación de la cadena de oxidación mediante la donación de hidrogeno y poder evitar la formación de radicales más estables.(29)

2.4.4.1.2. Antioxidantes secundarios

Los antioxidantes secundarios se encuentran en el organismo mediante el consumo de alimentos o suplementos que también protejan a la célula de los radicales libres. Por ejemplo, tenemos: vitamina E, vitamina C, β -caroteno y flavonoides.(29)

2.4.4.2. Radicales libres

Los radicales libres son átomos con electrones libres o desapareados, que capturan electrones de moléculas estables para lograr estabilidad electroquímica, aumentando la reactividad.

Cuando un radical libre intenta eliminar un electrón necesario, la molécula donada se combina con el electrón desapareado para formar el radical libre, provocando una reacción en cadena verdaderamente destructiva.

Los radicales libres tienen una vida biológica que dura unos microsegundos y reaccionan con todo lo que les rodea, provocando daños en las moléculas, las membranas celulares y los tejidos.(31)

Los problemas de salud se desarrollan a lo largo de los años a medida que nuestro cuerpo combate el exceso de radicales libres que se producen dentro de nuestro cuerpo.(31).

2.4.4.3. Estrés oxidativo

La oxidación es un proceso bioquímico que implica la pérdida de electrones y siempre va acompañada de reducción. Sin embargo, el estrés oxidativo se origina por una excesiva producción de radicales libres y por la falta de antioxidantes para neutralizarlos. Lo que genera un desequilibrio que provoca la destrucción de la célula trayendo como consecuencia muchas enfermedades asociadas con el estrés oxidativo y radicales libres.(32)

2.4.4.4. Métodos de actividad antioxidante

Esto ayuda a determinar la actividad antioxidante en función del porcentaje de captación de radicales libres.

- **Método DPPH:** “2,2-difenil-1-picrilhidrazilo”.(33)
- **Método ABTS:** “ácido 2,2-azinobis(3-etilbensoazolin)-6-sulfónico”.(33)

2.4.4.4.1. Método ABTS (ácido 2,2- azinobis (3- etilbensoazolin)-6-sulfónico)

El método ABTS es un método para medir la capacidad antioxidante de sustancias biológicas, extractos vegetales hidrofílicos o lipofílicos. Ideal para determinar la capacidad antioxidante de compuestos coloreados como las antocianinas. Los compuestos coloreados que se absorben en las región visible o secundaria tienen una máxima absorción cerca de la región infrarroja (754 nm).(33)

2.4.4.4.2. Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

El método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) desarrollado por Brand-Williams contiene electrones desapareados y es de color morado, volviéndose amarillo pálido cuando reacciona con antioxidantes.(34).

La absorbancia se midió espectrofotométricamente a (517 nm). La molécula de radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), como la mayoría de los demás radicales libres, se caracteriza por la división de electrones libres en toda la molécula, formando un radical estable.(33).

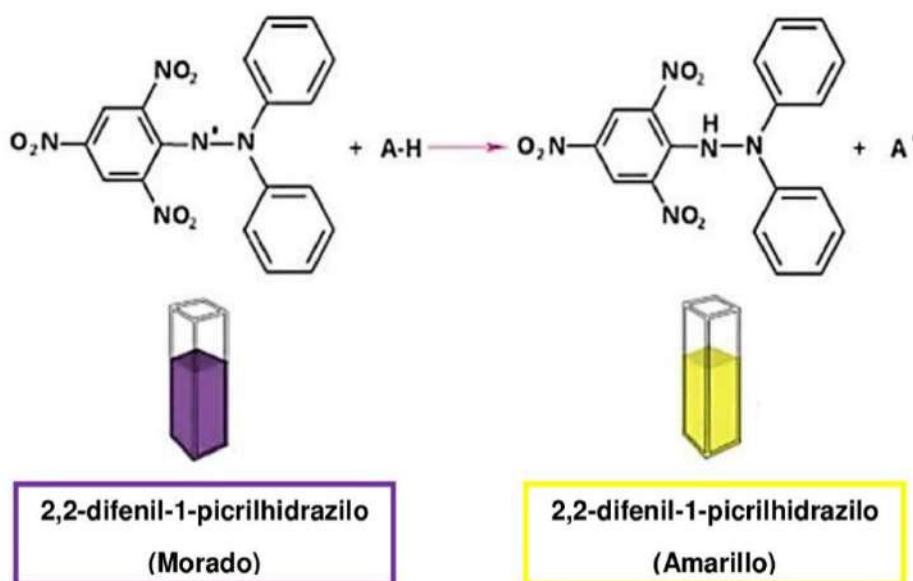


FIGURA N°4: Reacción química de (DPPH) “2,2-difenil-1-picrilhidracilo”

Fuente: Tovar del Rio, J. (2013).(33)

2.4.4.5. Patrón ácido ascórbico

La vitamina C o ácido ascórbico es un importante antioxidante hidrosoluble que es sensible al calor debido a su alta capacidad de donación de electrones. Su deficiencia se llama escorbuto y se asocia con una mayor susceptibilidad a infecciones, debilidad muscular y fatiga. En los niños, puede provocar anomalías óseas y hemorragias óseas.(35)

La vitamina C o ácido ascórbico, es un protector contra la oxidación celular y puede reducir la cantidad de radicales libres producidos durante el metabolismo. El antioxidante proviene principalmente de su alta capacidad para donar electrones y su capacidad para devolver en forma reducida, que es la forma más activa. Es un nutriente esencial necesario para muchas reacciones metabólicas

en todos los animales y plantas y es sintetizado internamente por pocos organismos, excepto humanos, primates, peces, aves e insectos.(35). Algunos animales lo sintetizan a partir de glucosa mediante la vía del ácido glucurónico. Los humanos no pueden sintetizarlo porque carecen de la enzima que cataliza el paso final de oxidación y deben obtenerla por la alimentación. Es termolábil, se oxida fácilmente en el aire y sirve como cofactor para muchas enzimas involucradas en la biosíntesis de colágeno, carnitina y ciertos neurotransmisores que ayudan a capturar oxígeno y nitrógeno en el ambiente acuático.(35). La vitamina C o ácido ascórbico se puede encuentra en frutas, hortalizas, zumos y alimentos fortificados.(35)

2.4.5. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA

Los antibacterianos son compuestos químicos que pueden inhibir o causar la muerte de microorganismos sin generar daño en el huésped u organismo portador.

2.4.5.1. Mecanismo de acción

2.4.5.1.1. Inhibe la síntesis de la pared celular

La pared celular es la estructura bacteriana típica y la administración de fármacos para que actúen a este nivel tendrán efectos antibacterianos selectivos. Este grupo incluye (betalactámicos, bacitracina, vancomicina, ciclosporina y fosfomicina).(36)

2.4.5.1.2. Agente que modifica la permeabilidad de la membrana celular

La base para el uso de estos agentes es el hecho de que algunas membranas de células bacterianas se degradan más fácilmente que las membranas de células animales, lo que da como resultado un efecto relativamente selectivo.

Este grupo incluye (detergentes de polimixina b, antimicóticos, anfotericina b y colistina).(36)

2.4.5.1.3. Agente que inhiben la síntesis proteica

La unidad funcional de síntesis de proteínas en las bacterias es el ribosoma 70S, que consta de dos subunidades: 50S y 30S (36). Por el contrario, los ribosomas de los mamíferos son 80 veces más grandes y sus subunidades no se descomponen fácilmente.(36)

Este grupo incluye (aminoglucósidos, tetraciclinas, macrólidos, cloranfenicol, lincosamidas).(36)

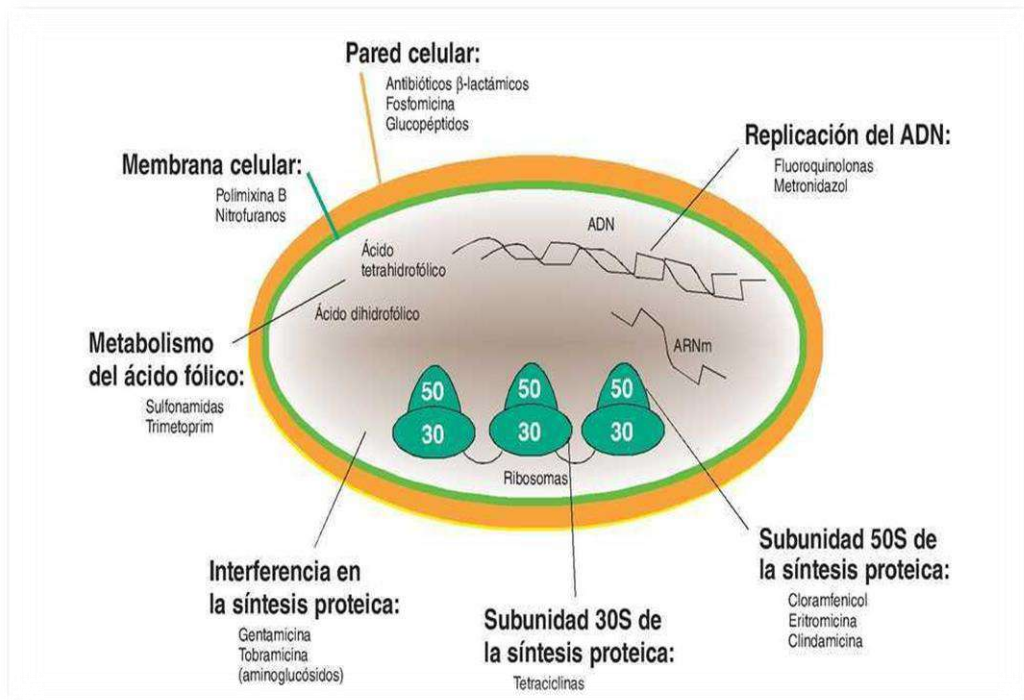


FIGURA Nº5: Mecanismo de Acción de los Antibióticos

Fuente: Mecanismo de Acción de los Antibióticos, Al-Nawas et al., (2011) (37).

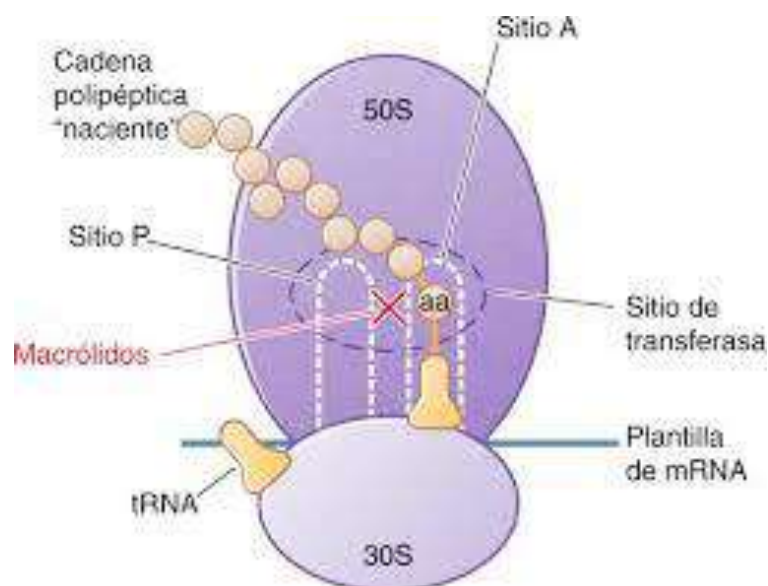
2.4.6. FARMACO USADO COMO PATRÓN

2.4.6.1. Eritromicina

2.4.6.1.1. Mecanismo de acción

Es un antibiótico que pertenece al grupo de los macrólidos.

La eritromicina inhibe la síntesis de proteica mediante la unión a la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos e impide la translocación.(38).



Fuente: Mecanismo de Acción de los Antibióticos, Al-Nawas et al., (2011) (37).

2.4.6.1.2. Farmacocinética

- **Biodisponibilidad:** 35% +- 25%.
- **Tiempo de vida media:** 2 – 3 horas
- **Absorción:**
 - Se absorbe de forma lenta e irregular en el intestino delgado.
 - La Eritromicina es sensible a la acidez gástrica.
 - Las sales ácidas y los ésteres no son afectados por el pH del estómago.
 - Los alimentos disminuyen la absorción de la base y del estearato, pero no afectan al estolato ni al etilsuccinato (39).
- **Distribución:**
 - Se distribuye en todos los tejidos (en mayor concentración en el hígado, biliar y bazo) excepto en el líquido cefalorraquídeo.
 - Mantiene los niveles adecuados en líquido pleural y ascítico.
 - En líquido prostático y seminal son el 33% de la concentración sérica.
 - En plasma fetal alcanza 5 a 20 % del nivel sérico materno, se excreta en leche materna.(39).
- **Metabolismo:**
 - Se metaboliza en el hígado citocromo P450 (sub familia CYP3A4). (39)
- **Excreción:**
 - Su eliminación es por la biliar.(39).

2.4.6.1.3. Indicaciones

La eritromicina está indicada para el tratamiento de las siguientes afecciones en adultos y niños:

- Infecciones por microorganismos susceptibles.
- Infecciones de la piel y tejidos blandos.
- Profilaxis de endocarditis.
- Infecciones genitourinarias por *C. Trachomatis*.
- Tos ferina (39).

2.4.6.1.4. Reacciones adversas

Las reacciones que presentan:

- **Cardiovasculares:** Arritmias, desmayos, muerte súbita.
- **Dermatológicos:** Rash, edema, urticaria.
- **Gastrointestinal:** Diarrea, náuseas, vómitos, cólicos, ictericia, colestasica, hepatitis, pancreatitis aguda (39).
- **Otorrinolaringólogo:** Disminución de la audición (39).

2.4.6.1.5. Interacciones

Tienen interacciones con los siguientes medicamentos:

- **Alfentanilo:** Su efecto puede prolongarse.
- **Carbamazepina, xantina, cafeína, ciclosporina, barbitúricos, fenitoína, bromocriptina, ácido valproico, cisaprida, astemizol:** Mayor riesgo de toxicidad.
- **Terfenadina:** Riesgo de efectos cardíacos adversos.
- **Warfarina:** Puede aumentar los efectos anticoagulantes.
- **Digoxina:** Aumenta los niveles séricos de digoxina.
- **Isoniazida y Metotrexato:** Mayor riesgo de hepatotoxicidad (39).

2.4.6.1.6. Contraindicaciones

- Hipersensibilidad a Eritromicina.
- En pacientes con insuficiencia cardíaca.(39)

2.5. MARCO CONCEPTUAL

- **Antioxidante:** Es una molécula que evita la oxidación de otra molécula. La función de la actividad antioxidante es neutralizar la acción del radical libre mediante la donación de un electrón para que no cause daño en la célula.(40)
- **Antibacteriano:** Sustancia capaz de eliminar bacterias o inhibir el desarrollo y contaminación de las mismas, sin generar daño en el hospedador u organismo portador.(36)
- **Antibióticos:** Sustancias producidas por diversos microorganismos capaces de suprimir la proliferación de otros gérmenes y al final pueden destruirlos.(36)
- **Radicales libres:** Los radicales libres son sustancias inestables por la presencia de su electrón desapareado, generándole una gran afinidad por captar un protón libre.(31)
- **DPPH (2,2-difenil-1-picrylhidrazilo):** Es un radical libre nitrogenado orgánico de color morado. El DPPH sólo se puede utilizar en medios orgánico como el etanol absoluto, etanol y su absorbancia se mide a 517nm. Cuando el DPPH reacciona con los antioxidantes, cambia de color de morado a amarillo debido a la presencia de antioxidantes.(34).
- **In vitro:** Es un tipo de ensayo utilizado en laboratorio con el fin de mantener con vida a microorganismos para que puedan ser manipulados y observados, con fines de investigación.(41)
- **Agar:** Es una sustancia que se extrae de las algas rojas Gelidium y no puede ser digerida por las bacterias.(42)
- **Halos de inhibición:** 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.(41).
- **Cepa ATCC:** Son importantes herramientas de control de calidad en los laboratorios de microbiología y son microorganismos certificados que se utilizan en muchos campos diferentes para el control de calidad microbiológica.(43)

CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

3.1. MATERIALES BIOLÓGICOS:

3.1.1. Muestra vegetal

- Se utilizaron las flores de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy).

3.1.2. Muestra microbiológica

- Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

3.2. MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO

3.2.1. Materiales de Campo

- Cuaderno de campo.
- Tijera y cúter.
- Cámara fotográfica.
- Papel Kraft.
- Lapiceros.
- Guantes de látex talla (M).
- Mascarilla KN95
- Plumón indeleble de color negro.

3.2.2. Materiales de laboratorio

- Molino.
- Papel aluminio.
- Tubo de ensayo de 5 mL
- Tubo de ensayo de 10 mL
- Tubo de vacutainer EDTA K2
- Bagueta.
- Pipeta de 1mL.
- Pipeta de 5mL.
- Vaso de precipitado de 50 mL
- Vaso de precipitado de 100 mL
- Vaso de precipitado de 500 mL
- Matraz Erlenmeyer de 100mL.
- Matraz Erlenmeyer de 250mL.
- Matraz Erlenmeyer de 500mL.
- Goteros 10 mL

- Probeta de 50mL
- Probeta de 100mL
- Probeta de 500mL.
- Embudo de vidrio.
- Asa de siembra.
- Hisopo.
- Placas Petri.
- Jeringa de 20 mL.

3.2.3. Instrumentos

- Gradilla
- Micropipeta de 10 - 100 μ L.
- Micropipeta de 20 - 200 μ L.
- Micropipeta de 100 - 1000 μ L.
- Mechero bunsen
- Mortero
- Pinzas
- Papel filtro
- Pizeta de 500 mL
- Soporte universal
- Termómetro digital tipo clavo

3.2.4. Equipo de Laboratorio

- Cocinilla eléctrica.
- Baño María.
- Balanza digital marca: (Kitchen Scale).
- Destilador de agua
- Estufa y/o incubadora, marca: (MERCK) con rango de T° de 5°C.
- Refrigeradora de color plomo
- Autoclave, marca: (Euretech).
- Balanza analítica, marca: (KERN) con capacidad de 320g.
- Espectrofotómetro, marca: (Thermo Electrón – Genesys 20) con rango de medición de 200 nm a 800 nm.

3.2.5. Solventes y reactivos

- Agua destilada.
- Metanol.
- Etanol absoluto
- Etanol de 96% o alcohol etílico de 96%
- Etanol de 70% o alcohol etílico de 70%
- Acetona.
- Acetato de Etilo
- Cloroformo.
- Hexano.
- Propilénglicol.
- Cloruro férrico al 1%.
- Limaduras de magnesio.
- Ácido clorhídrico concentrado.
- Reactivo de Dragendorff.
- Reactivo de Lieberman – Burchart
- Ácido sulfúrico concentrado
- Reacciones de Bomtrager:
- DPPH ALDRICH-SIGMA®

3.2.6. Medios de cultivo para la activación de *Staphylococcus aureus*.

- Agar Base Sangre
- Agar Muller Hinton.
- Caldo Brain Heart Infusion (BHI)

3.2.7. Medios de cultivo para el control microbiológico

- Agar SS (salmonella y Siguella).
- Caldo Lactosado Verde Brillante Bilis 2% (Coliformes fecales).
- Agar Plate Count (Mesofilos viables).
- Agar Sabouraud (Hongos y levaduras)

3.2.8. Patrones

- Vitamina C (Ácido ascórbico).
- Disco de Eritromicina (15ug).

3.3. DISEÑO METODOLÓGICO DE LA INVESTIGACIÓN

3.3.1. Tipo de estudio

- El trabajo de investigación para evaluar la actividad antioxidante y antibacteriana es de tipo experimental con diseño cuasi-experimental porque la variable independiente del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) fue manipulada deliberadamente.

3.3.2. Diseño de la Investigación

- Es el estudio donde se analizará la actividad antioxidante y antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus* para lo cual se utilizó un diseño de investigación cuasi-experimental con grupo de control.

3.3.3. Ensayo de la Actividad Antioxidante

- Para determinar la actividad antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) a diferentes concentraciones y que tendrá como patrón a la vitamina C (ácido ascórbico), se trabajó de acuerdo con la Tabla N° 1.

TABLA N°1: Diseño cuasi-experimental de la actividad antioxidante

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G ₁	Y ₁	A ₁
G ₂	Y ₂	A ₂
G ₃	Y ₃	A ₃
G ₄	Y ₄	A ₄
G _s	S	A _s
G _n	----	A _n

Donde:

- G₁-G_n: Tubo de ensayo con el reactivo DPPH (radical libre que reacciona con el antioxidante que se aprecia con el cambio de coloración de morado a amarillo).
- Y₁- Y₄: Tubos de ensayo con extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* a diferentes concentraciones (expresado en µg/mL)
- S: patrón (ácido ascórbico µg/mL)
- --: Ausencia de tratamiento (blanco)
- A₁-A_n: Lecturas de las absorbancias a 517 nm en el espectrofotómetro.

3.3.4. Ensayo de la Actividad Antibacteriana

- Para determinar la CMI de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), se trabajó de acuerdo con la Tabla N° 2. (24).

3.3.4.1. Diseño para la determinación de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

- Diseño cuasi-experimental con post prueba y grupo control.

TABLA N°2: Determinación de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a *Staphylococcus aureus*:

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G ₁	X ₁	O ₁
G ₂	X ₂	O ₃
G ₃	X ₃	O ₃
:	:	:
G _x	X _x	O _x

Donde:

- G₁, G₂, ..., G_x: Cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- X₁, X₂.... X_x: Son diferentes concentraciones en porcentajes de 25%, 50%, 75% y 100% del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) sembradas en placa Petri por triplicado por el método de pozos excavados.
- X_x: Fármaco patrón "Eritromicina"
- O₁, O₂, O₃.... O_x: Observación y medición de los halos de inhibición por diferentes concentraciones del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) y del control positivo del fármaco patrón (Eritromicina).

3.4. VARIABLE: DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL

3.4.1. Variables Implicadas:

3.4.1.1. Variable Independiente

A. Concentración del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

a) Definición conceptual:

Es la cantidad de extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* que se usó para determinar la actividad antioxidante y antibacteriana, extraído por maceración con una mezcla de propilénglicol y agua en una proporción 50:50 .(21)

b) Definición Operacional:

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Forma de medición:** Directa
- **Escala:** Razón
- **Instrumento de medición:** Micropipeta
- **Procedimiento de medición:**

La cantidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) se midió volumétricamente en (μL) y se usó para preparar las diferentes concentraciones para determinar la actividad antioxidante y antibacteriana.

- **Indicadores:** Cantidad de extracto en solución.
- **Expresión final:** $\mu\text{g/mL}$

3.4.1.2. Variables Dependientes

A. Actividad Antioxidante

a) Definición conceptual:

Es la capacidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* para decolorar el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) cambiando su color de púrpura o violeta a amarillo.(34)

b) Definición Operacional:

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Forma de medición:** Indirecta
- **Escala:** Razón
- **Instrumento de Medición:** Espectrofotómetro UV visible

- **Procedimiento de medición:** Se colocó la solución del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) a diferentes concentraciones en contacto con una solución de DPPH (con una absorbancia de 0.8 - 1), luego se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos en la oscuridad y realizar las lecturas a 517nm.
- **Indicador:** Porcentaje de captación del radical libre DPPH por el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy).
- **Expresión final de la variable:** Porcentaje de inhibición de DPPH.

B. Actividad Antibacteriana

a) Definición conceptual:

Es la capacidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* para inhibir el crecimiento de una cepa ATCC de *Staphylococcus aureus* usando el método: halos de inhibición.(44)

b) Definición Operacional:

- **Naturaleza:** Cuantitativa
- **Forma de medición:** Directa
- **Escala:** Razón
- **Instrumento de Medición:** Vernier, para medir los halos de inhibición.
- **Procedimiento de medición:** Se midió los halos de inhibición del crecimiento bacteriano en las placas Petri inoculadas usando el vernier, producida con diferentes concentraciones del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) y el fármaco patrón.
- **Indicador:** Formación de halos de inhibición en las placas Petri inoculadas.
- **Expresión final de la variable:** milímetros (mm)

CUADRO Nº 1: Operacionalización de variables

OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES							
Variable independiente		Definición conceptual	Naturaleza	Escala de medición	Forma de medición	Indicador	Expresión final
		Concentración del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	Es la cantidad de extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> que se usará para determinar la actividad antioxidante y antibacteriana, extraído por maceración con una mezcla de propilénglicol y agua en una proporción 50:50.(21)	Cuantitativa	Razón	Directa	Cantidad de extracto en solución
Variables dependientes	Actividad Antioxidante	Es la capacidad del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> para decolorar el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) a través del cambio de color de morado o violeta a amarillo.(34)	Cuantitativa	Razón	Indirecta	Porcentaje de captación del radical libre DPPH por el extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy).	Porcentaje de inhibición de (DPPH)
	Actividad Antibacteriana	Es la capacidad del extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> para inhibir el crecimiento de una cepa ATCC de <i>Staphylococcus aureus</i> usando el método de pozos excavados.(44)	Cuantitativa	Razón	Directa	Para la medición del diámetro de halo de inhibición: Zona alrededor del pozo excavado de sensibilidad en el que se produce crecimiento bacteriano.	Para el halo de inhibición: mm

3.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y SELECCIÓN

3.5.1. Planta en estudio

- **Criterios de inclusión**
 - Se recolectó las flores amarillas sanas de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy).
- **Criterios de exclusión**
 - Se excluyeron: Las flores amarillas de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy) dañadas o que hayan sufrido el ataque de bacterias.

3.5.2. Cepa bacteriana

- **Criterio de inclusión**
 - Cepa bacteriana de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- **Criterio de exclusión**
 - Se excluyeron: Las cepas bacterianas que no se encuentre en buenas condiciones (contaminación) o que no cumplan las características básicas de las cepas específicas.

3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- Observación: Se usó la técnica de observación experimental, donde se utilizó técnicas de recolección de datos mediante instrumentos como cámara fotográfica, ficha de recolección de datos y una regla de vernier.
- Formato de recolección para la planta de estudio, *Senna birostris* (Mutuy) (Anexo 5).
- Formato de recolección de datos para la actividad antioxidante y antibacteriana “in vitro” del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) (Anexo 11).

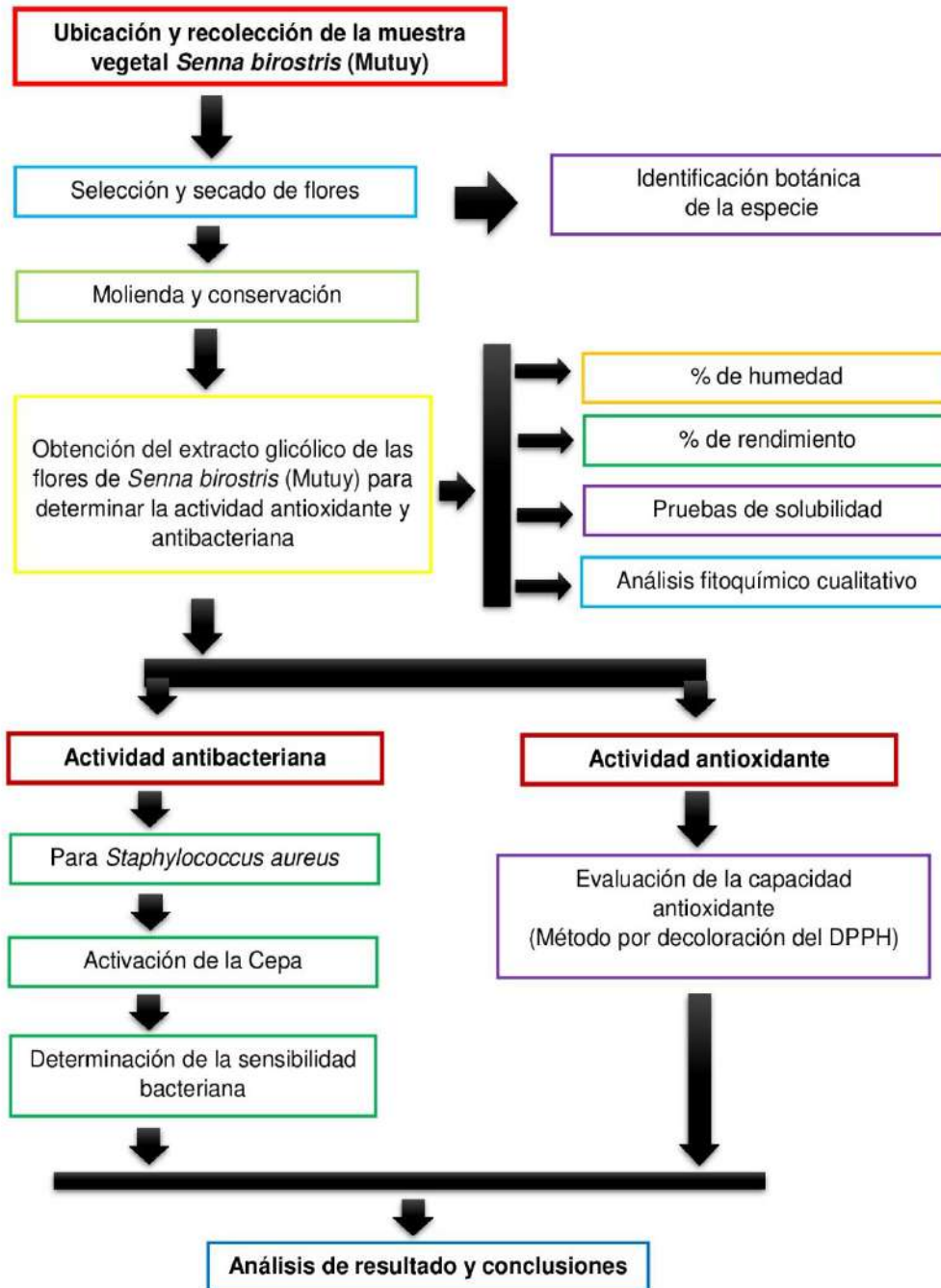
3.7. TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS OBTENIDOS

- Para organizar de manera adecuada los datos obtenidos, primero se procesaron en el software Excel 2016, para la obtención de los gráficos y para un mejor análisis de los datos se utilizó el software SPSS 25 como programa estadístico para aplicar el modelo de análisis de la Varianza ANOVA y Prueba Post Hoc de Tukey, con la finalidad de obtener si existe o no diferencia significativa entre los grupos de estudio.

3.8. PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

3.8.1. Procedimiento general del estudio

FLUJOGRAMA N°1: Procedimiento General



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

3.9. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL

3.9.1. Muestra vegetal

a. Información:

- Toda la información sobre la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy) se obtuvo de sitios web de investigación botánica sobre plantas medicinales y la identificación taxonómica se realizó en el Herbario Vargas (CUZ) - UNSAAC.

b. Recolección de la especie vegetal

- Se realizó la recolección de las flores de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy) en los meses de marzo del 2023, en el distrito de Cusco - Saqsaywaman, provincia de Cusco, departamento de Cusco, a una altura de 3560 m.s.n.m. Fueron recolectadas en zonas alejadas de los bordes de los caminos y se preservaron en bolsas de papel Kraft.

c. Selección

- Se realizó la selección respectiva de las flores de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy), separando las partes dañadas o que sufrieron ataques de hongos e insectos.

d. Secado

- Se realizó el secado de las flores de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy) de manera extendida sobre papel kraft, en una habitación cerrada y limpia sin acceso a la luz, ventilado y a temperatura ambiente.

e. Molienda y conservación

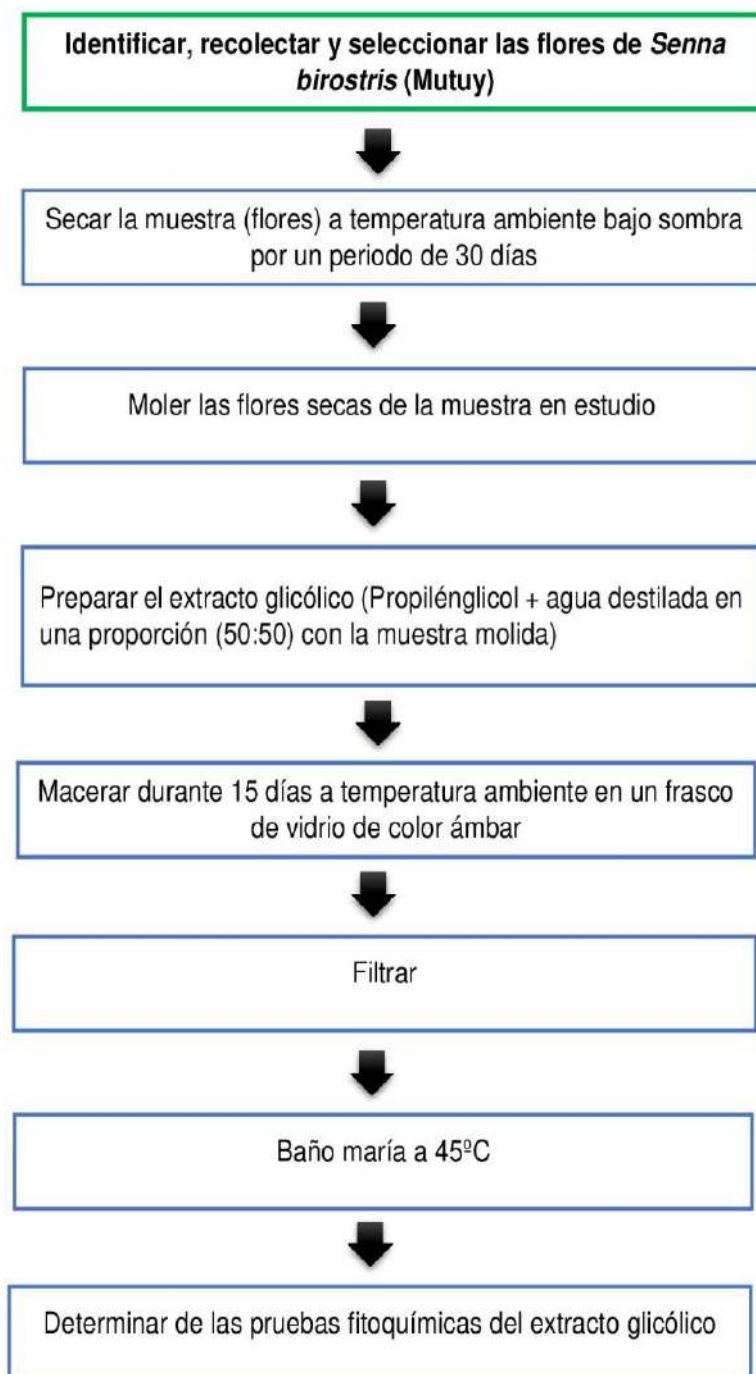
- Se utilizó un molino el cual fue debidamente limpiado y desinfectado con alcohol, luego las flores secas de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy) se trituraron y luego se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar en contacto con el solvente de extracción (propilénglicol + agua destilada; 50:50) debidamente cerrado, bien rotulado y con la fecha correspondiente, por un periodo de 15 días.

3.9.2. Obtención del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Procedimiento:

Para la extracción glicólica se utilizó 150g de las flores molidas (muestra seca) de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy), y fueron maceradas en una mezcla de propilénglicol y agua destilada en una proporción 50:50 en un frasco de vidrio de color caramelo debidamente etiquetado y rotulado, se agitó diariamente en un periodo de 15 días a temperatura ambiente. Luego se filtró y se sometió a evaporación a baño maría a 45°C. Este extracto se utilizó para pruebas de solubilidad, análisis fitoquímico cualitativo, control de calidad microbiológico y para determinar la actividad antioxidante y antibacteriana.(21)

FLUJOGRAMA N°2: Procedimiento del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

3.9.3. Porcentaje de humedad

El porcentaje de humedad de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) se determinó por triplicado en placas Petri y se pesaron las placas Petri que contenían 5g de muestra fresca, luego estas se colocaron en una estufa a una temperatura de 40°C por 1 hora hasta lograr un peso constante.(45)

El porcentaje de humedad se calculó según la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{M1-M2}{M1} \times 100$$

Donde:

- **%H** = Porcentaje de humedad
- **M1** = Peso de la muestra de flores fresca
- **M2** = Peso de la muestra de flores seca

FIGURA N°6: Determinación del porcentaje de humedad (29)

3.9.4. Porcentaje de rendimiento

- Se calculó según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Extracción} = \frac{\text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

Donde:

- **%E** = Porcentaje de extracción
- **Pf** = Peso final del extracto
- **Pi** = Peso inicial de la muestra seca molida

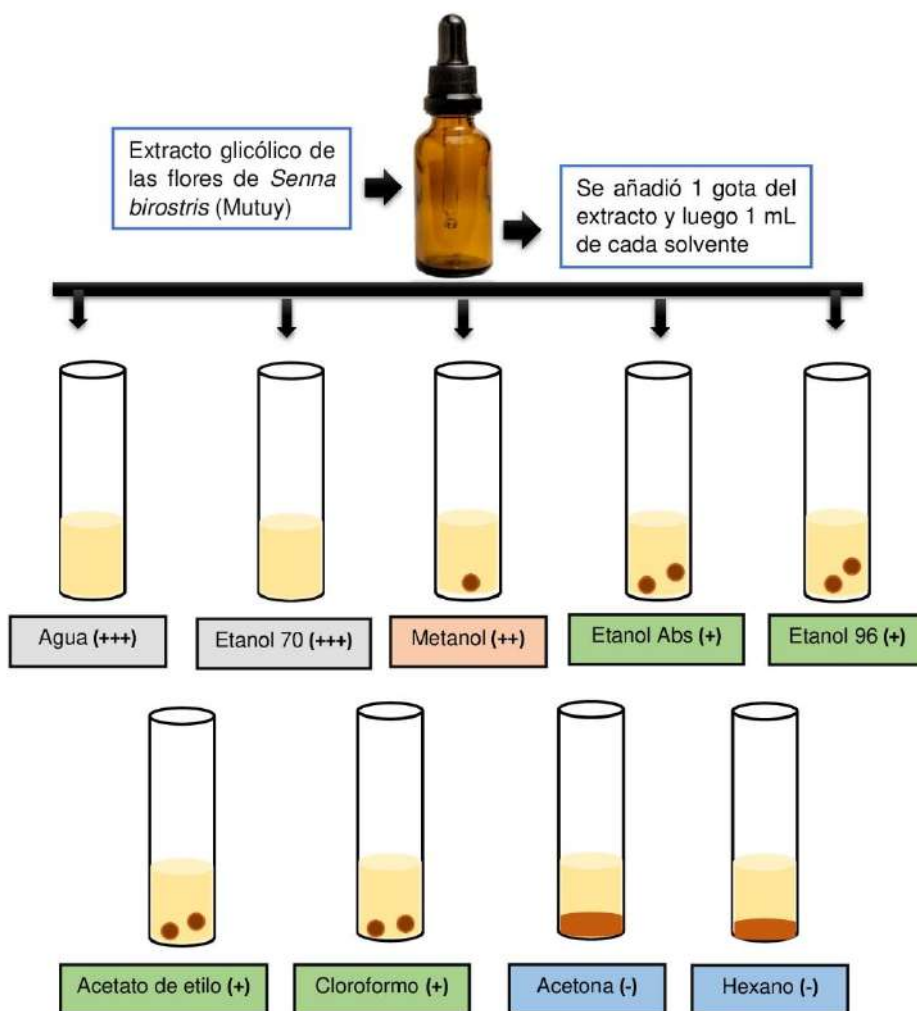
FIGURA N°7: Determinación del porcentaje de rendimiento (29).

3.9.5. Prueba de solubilidad

Para determinar la solubilidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), se colocó una gota del extracto en diferentes tubos de ensayo, luego en los diferentes tubos de ensayo se añadió 1 mL de cada solvente con diferentes polaridades como: agua destilada, metanol, etanol absoluto, etanol de 70%, acetona, acetato de etilo, cloroformo y hexano.(29).

(ANEXO 6)

FLUJOGRAMA N°3: Prueba de solubilidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



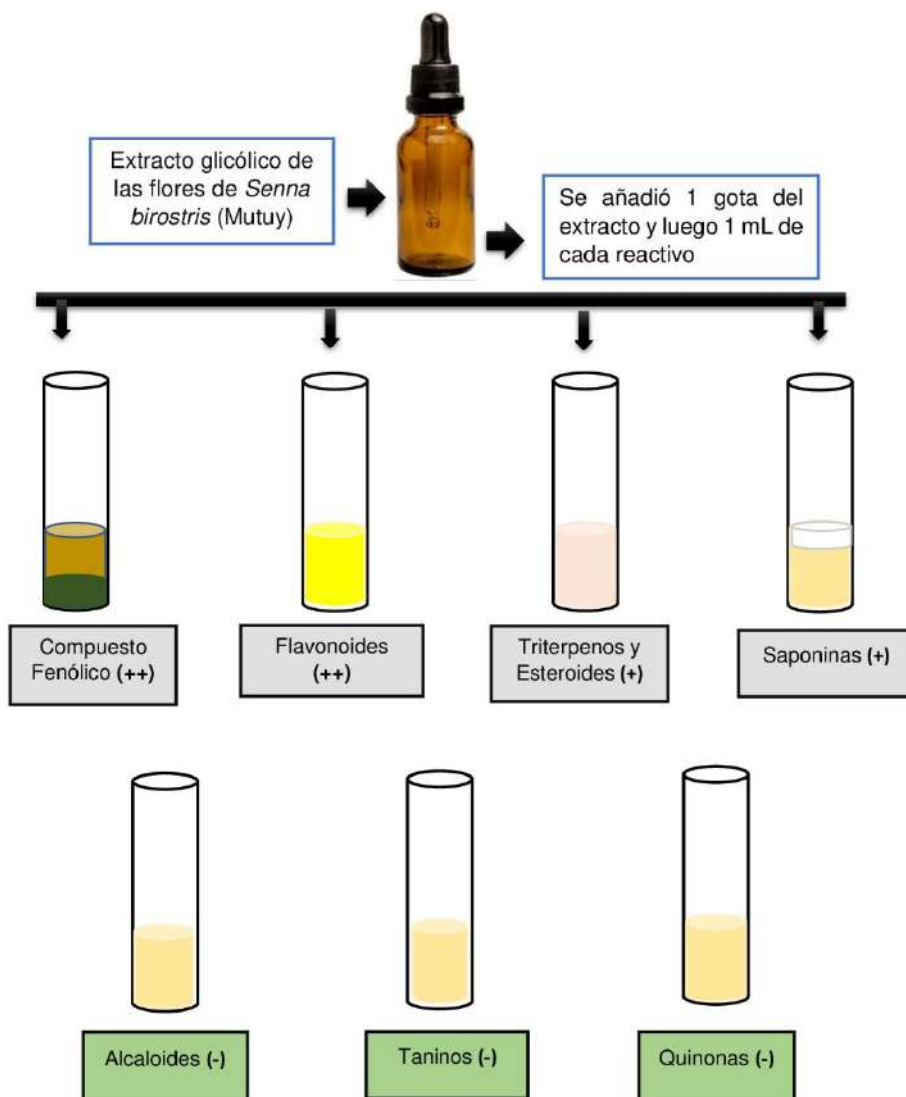
Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

3.9.6. Análisis fitoquímico cualitativo

Para realizar el análisis fitoquímico cualitativo del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), se colocó una gota del extracto en diferentes tubos de ensayo, luego en los diferentes tubos de ensayo se añadió 1 mL de cada reactivo para determinar el color y/o precipitación.(46)

Se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, triterpenos y esteroides, saponinas, taninos y quinonas.(46).(ANEXO 6)

FLUJOGRAMA N°4: Análisis fitoquímico cualitativo del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

3.9.7. Actividad antioxidante

Se utilizó el método de radicales libres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) desarrollado por Brand-Williams para determinar la actividad antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy).(47)

3.9.7.1. Método de radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

3.9.7.1.1. Preparación de la solución control DPPH

Se pesó 3.9 mg del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) en la balanza analítica y se disolvió en un matraz aforado con 100mL de etanol al 70%. La solución se sónica durante 20 minutos con la finalidad de lograr una mayor solución homogénea. La solución del radical DPPH en el matraz aforado fue completamente cubierto con papel aluminio y se dejó a una temperatura ambiente para que pueda reaccionar durante 24 horas en la oscuridad.(48)

La medición de la absorbancia DPPH se medió utilizando un espectrofotómetro a 517 nm dentro del rango permitido de 0.8 – 1.09. Luego de lograr la absorbancia adecuada para el DPPH, se mezcló con diferentes preparaciones de la muestra del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy).(29)

3.9.7.1.2. Preparación de solución patrón del Ácido Ascórbico

Se pesó 1mg de ácido ascórbico en una balanza analítica y disolvimos en 10mL de etanol al 70% en un matraz aforado. La solución se sónica durante 20 minutos con la finalidad de logran una mayor solución homogénea. La solución de ácido ascórbico en el matraz aforado se cubrió completamente con papel aluminio y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora en la oscuridad, luego se prepararon diferentes soluciones con concentraciones de 2µg/mL, 3µg/mL, 4µg/mL, 5µg/mL, 6µg/mL, 7µg/mL, 8µg/mL, 9µg/mL y 10µg/mL para realizar la curva de comparación referencial.(49)

3.9.7.1.3. Preparación de la curva referencial

Para las diferentes concentraciones del ácido ascórbico, se agregó 0.5mL de etanol al 70% y 1,5mL de la solución de DPPH, se agito cada tubo vigorosamente y se dejó a una temperatura ambiente para que pueda reaccionar durante 30 minutos en la oscuridad. Luego se midió la absorbancia de la solución a 517nm usando un espectrofotómetro. El nivel de coloración del DPPH de morado a amarillo, indica que tiene actividad antioxidante y el porcentaje de inhibición se calcula según la siguiente formula.(49)

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{ABS(DPPH) - ABS(MUESTRA)}{ABS(DPPH)} \times 100$$

Donde:

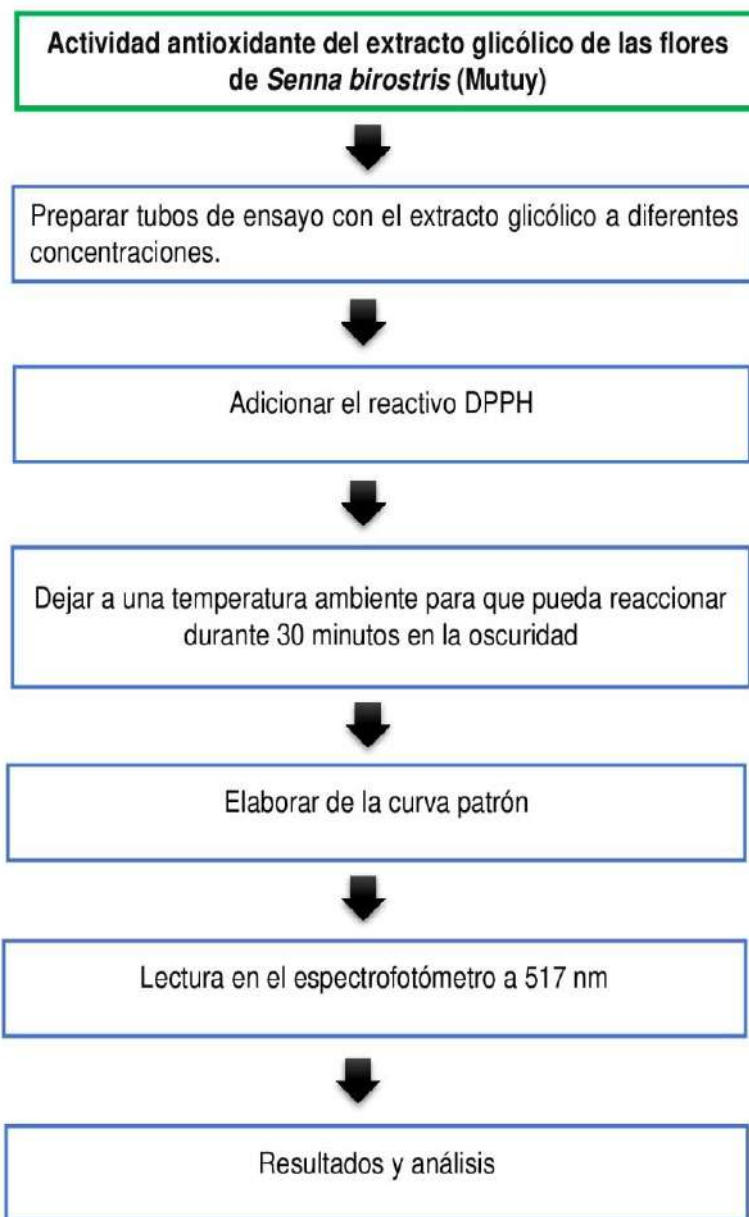
- **ABS (DPPH)** = Absorbancia del control
- **ABS(MUESTRA)** = Absorbancia de la muestra

FIGURA N°8: Porcentaje de inhibición del radical (DPPH).(47)

3.9.7.1.4. Medición de la actividad antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Se preparó diferentes soluciones con concentraciones de 20µg/mL, 30µg/mL, 40µg/mL, 50µg/mL, 60µg/mL, 70µg/mL, 80µg/mL, 90µg/mL y 100µg/mL del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), se agregó 0.5mL de etanol al 70% y 1.5mL de la solución de DPPH, agite cada tubo vigorosamente y se dejó a una temperatura ambiente para que pueda reaccionar durante 30 minutos en la oscuridad.(49). Luego se midió la absorbancia de la solución a 517nm usando un espectrofotómetro. El nivel de coloración del DPPH de morado a amarillo, indica que tiene actividad antioxidante y se calcula el porcentaje de inhibición.(48)

FLUJOGRAMA N°5: Actividad antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

3.9.8. Control microbiológico

3.9.8.1. Control Microbiológico del Extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

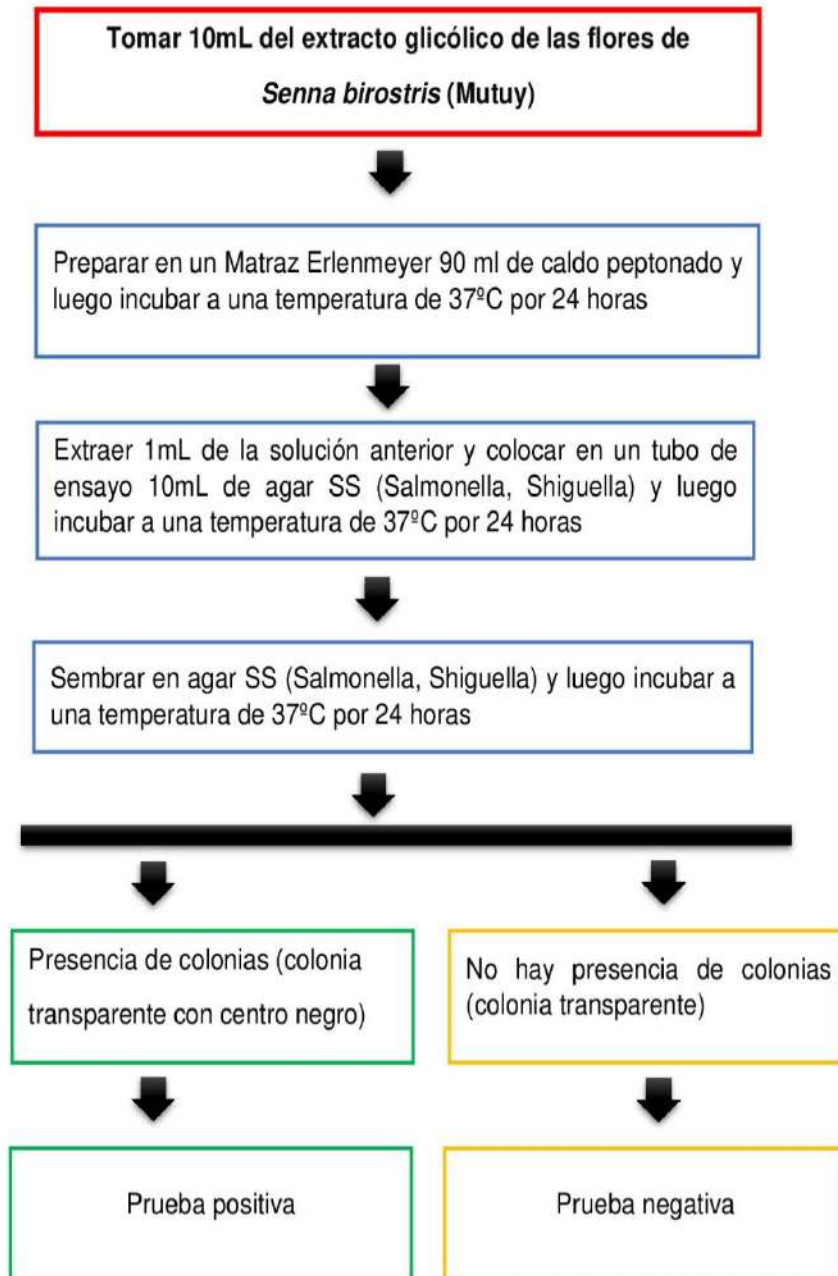
Según la Norma Sanitaria “Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria de Salud”, en la siguiente tabla se presentan los criterios que se deben tener en cuenta para controlar la calidad del extracto en estudio.(50)

TABLA N°3: Análisis del criterio de control microbiológico

CRITERIOS	AGAR EN USO	PESO DEL EXTRACTO	BACTERIA Y HONGOS	RESULTADOS ACEPTABLES
Criterio imperativo: no debe presentar, en caso hubiera el riesgo es muy elevado	Agar SS	10 g	Salmonella	Negativo
Criterios indicativos de higiene: el exceso indica que las condiciones de higiene en el proceso son deficientes y que el producto puede ser rechazado.	Agar Mc Conkey Y VBBL	1 g	Coliformes fecales (E. coli)	Negativo
Criterios de alerta o límites críticos: significa que durante el proceso de propagación del extracto no debe exceder los límites especificados.	Agar Sabouraud	1 g	Aerobios mesófilos Hongos y levaduras	Negativo

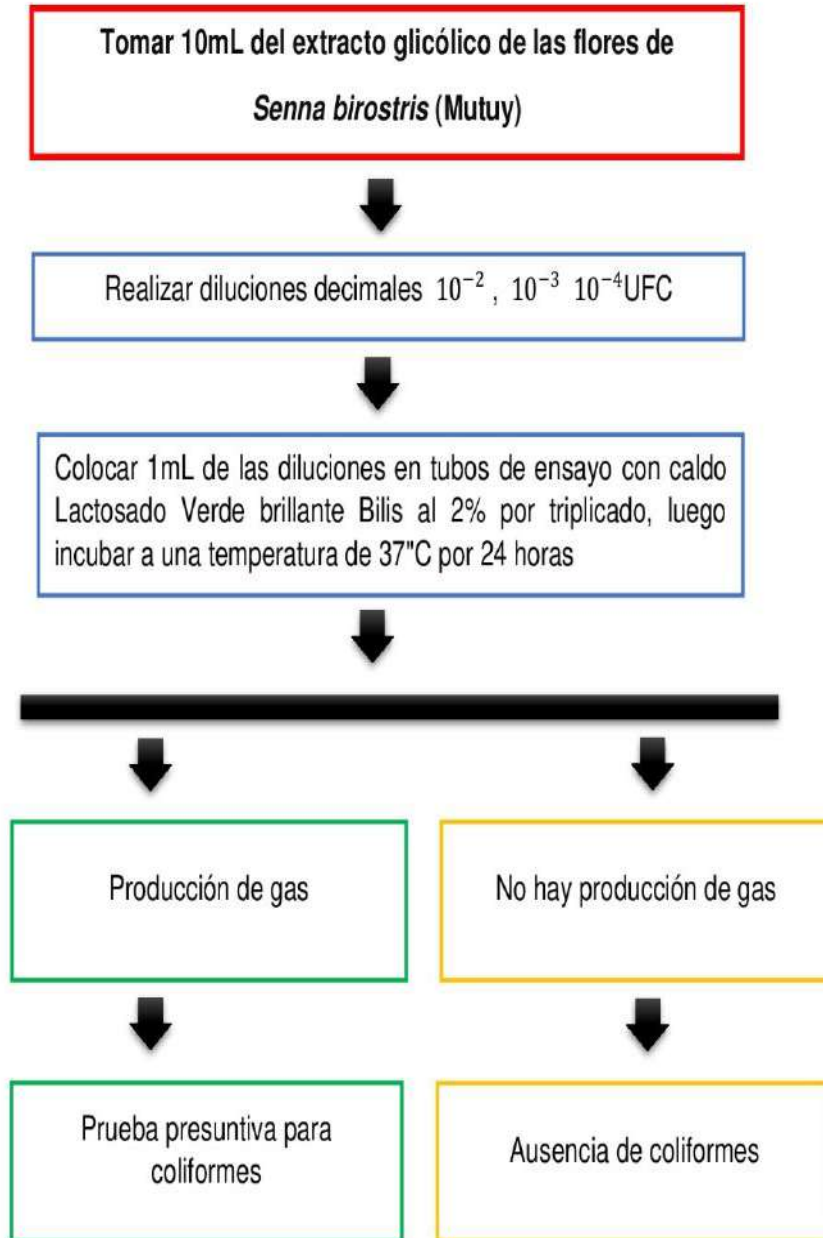
Fuente: DIGESA: “Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano”. Cusco - Perú, 1999. (50)

FLUJOGRAMA N°6: Control de calidad de los extractos concentrados en base al criterio imperativo (Salmonella)



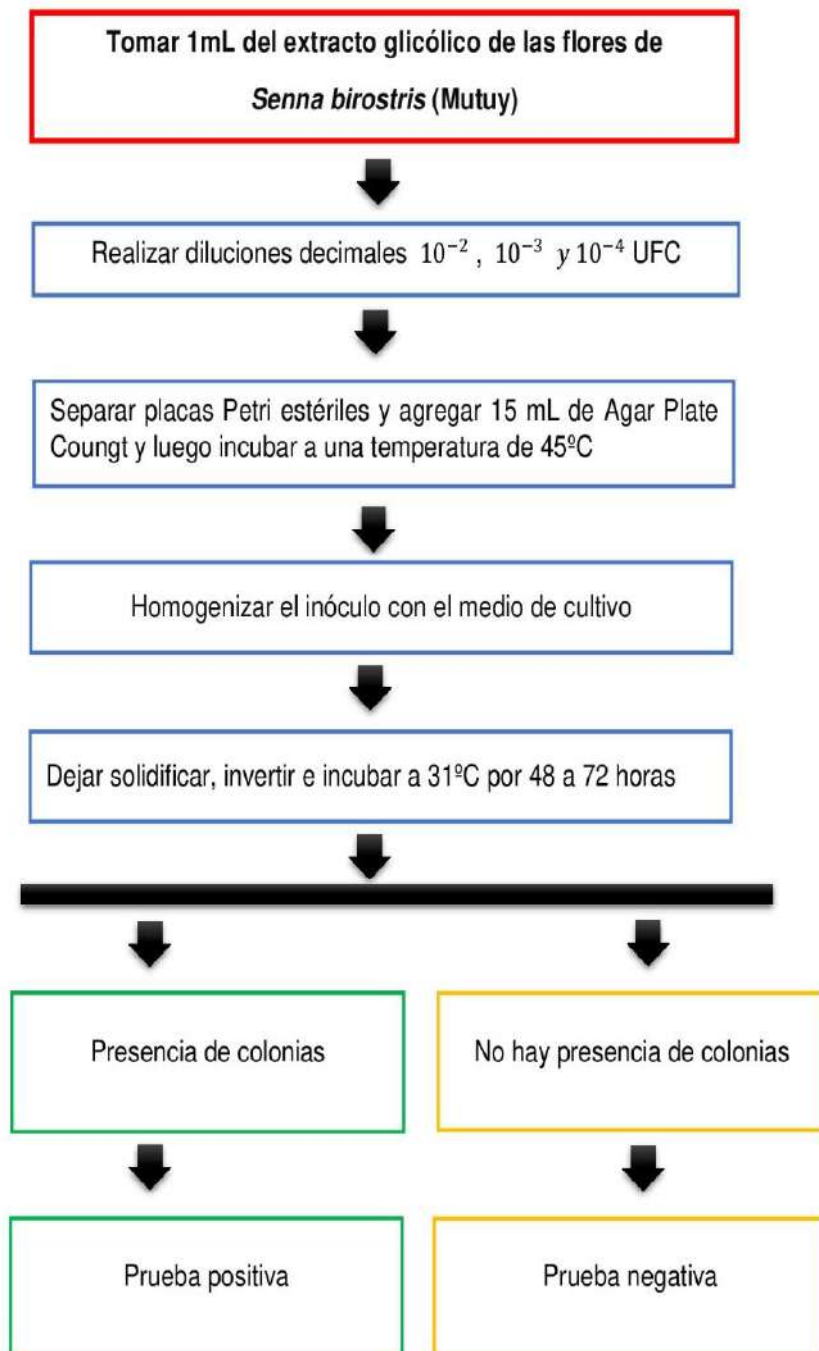
Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

FLUJOGRAMA N°7: Control de calidad de los extractos concentrados en base al criterio indicativo de higiene (Coliformes fecales)



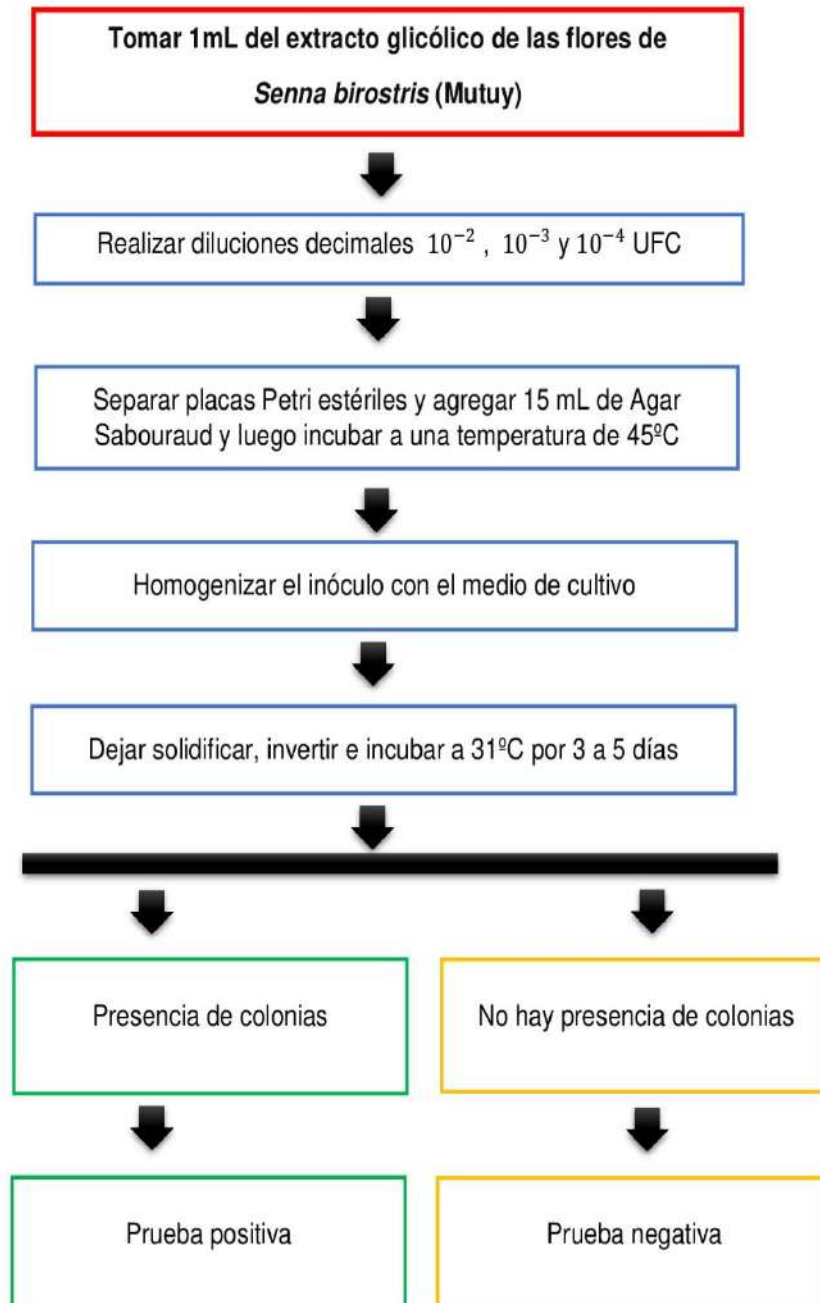
Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

FLUJOGRAMA N°8: Control de calidad de los extractos concentrados según el criterio de alerta o límites críticos (Mesófilos viables)



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

FLUJOGRAMA N°9: Control de la calidad de los extractos concentrados según el criterio de alerta o límites críticos (Hongos y levaduras)



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

3.9.9. Actividad antibacteriana mediante el método de pozos excavados

3.9.9.1. Procesamiento bacteriológico

A. Reactivación de la cepa ATCC

- La cepa ATCC se obtuvo de Microbiologics – Genlab del Perú, para la reactivación Microbiologics – Genlab del Perú recomienda utilizar los siguientes tipos de agar: Blood Agar Base, Agar Muller Hinton o Agar Nutritivo y Caldo Brain Heart Infusion (BHI).
- Para reactivar la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se utilizó Blood Agar Base según instrucciones de Microbiologics – Genlab del Perú. (ANEXO 10)

B. Conservación de la bacteria

- La cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se conservó en un tubo de ensayo que contenía 5mL de Caldo Brain Heart Infusión (BHI), se rotulo y se codifico adecuadamente, se incubó a 37°C durante 24 horas y luego se conservó a 4°C en un refrigerador y replicado en un medio nuevo cada 15 días para la conservación de la cepa.(51)

C. Preparación del inóculo.

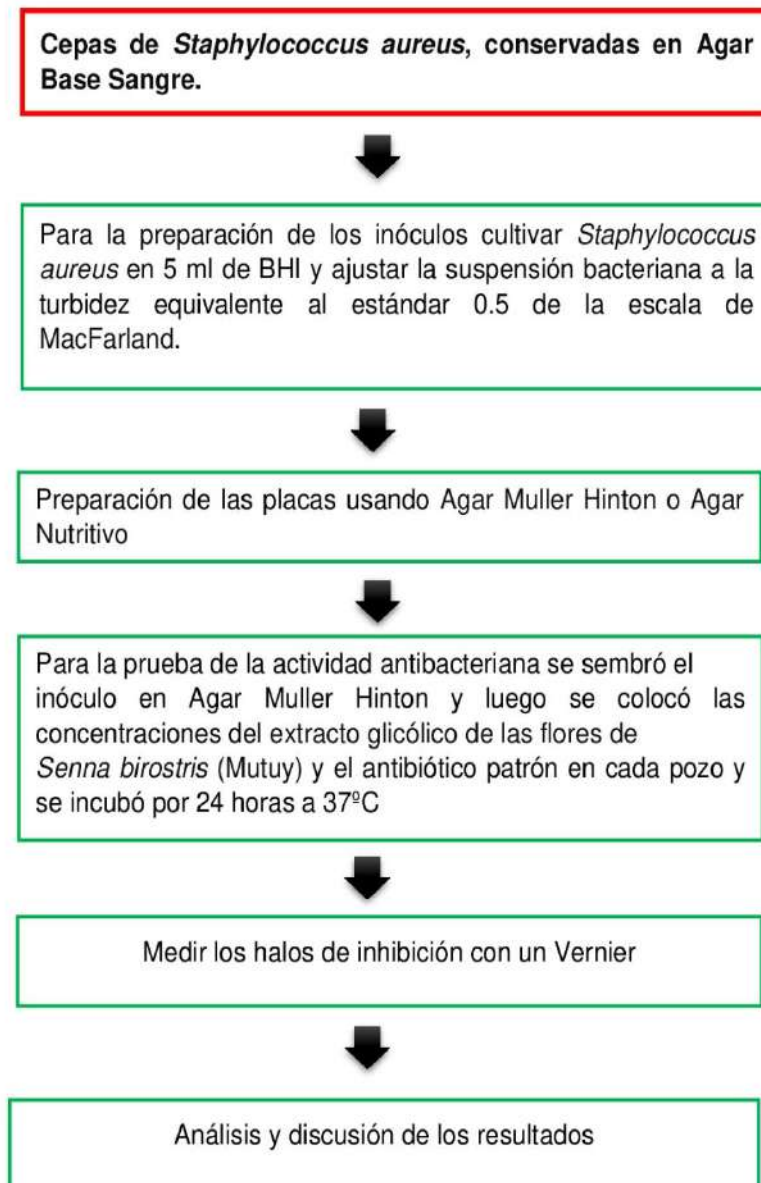
- Se cultivó la bacteria de *Staphylococcus aureus* en un tubo de ensayo que contenía 5mL de Caldo Brain Heart Infusión (BHI), se incubó a 37°C durante 24 horas, con la finalidad de realizar a partir de este el sembrado en las placas. Luego se realizó los ajustes de la suspensión bacteriana a la turbidez equivalente al estándar (0.5 de la escala MacFarland = 1.5×10^8 UFC/mL de la escala de MacFarland).(52)

D. Preparación de las placas Petri:

- Se prepararon placas Petri utilizando aproximadamente 20 ml de Agar Muller Hinton o Agar Nutritivo.(45)
- Se prepararon diferentes concentraciones del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) al 25%, 50%, 75% y 100%, para el control del fármaco patrón de Eritromicina 15ug/25uL.(45)
- Una vez obtenida la suspensión bacteriana, se procedió a la siembra con la ayuda de un hisopo estéril sobre placas del agar Muller Hinton o Agar Nutritivo previamente preparadas.(45)

- Se incubó a 37°C durante 30 minutos y luego con una pipeta Pasteur (5.9 mm de diámetro) se realizó los 3 pozos excavados por placa Petri.(53)
- Luego usando una micropipeta se depositaron 25uL del extracto glicólico y del fármaco en cada pozo excavado.(53)
- Finalmente se incubó a 37°C durante 24 horas. Pasado este tiempo, se midió con un vernier el diámetro de halo formado.(53)

FLUJOGRAMA N°10: Actividad antibacteriana por el método de pozos excavados del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

CAPITULO IV
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. PORCENTAJE DE HUMEDAD

4.1.1. Porcentaje de humedad de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Los resultados del porcentaje de humedad de las flores de *Senna birostris* (Mutuy). Se determinó mediante la siguiente formula:

$$\%H = \frac{M1-M2}{M1} \times 100$$

Donde:

- %H = Porcentaje de humedad
- M1 = Peso de la muestra de flores fresca
- M2 = Peso de la muestra de flores seca

TABLA N°4: Resultado del porcentaje de humedad de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

ESPECIE VEGETAL	NÚMERO DE DETERMINACIONES	PESO DE LA MUESTRA FRESCA	PESO DE LA MUESTRA SECA	PORCENTAJE DE HUMEDAD
<i>Senna birostris</i> (Mutuy)	1	5,012g	1,095g	78,15%
	2	5,008g	1,097g	78,10%
	3	5,014g	1,093g	78,20%
	PROMEDIO			78,15%

Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la tabla N°4 se puede observar que el promedio del porcentaje de humedad de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) es de 78,15%, en el cual las flores de Mutuy tienen un porcentaje relativamente alto, por lo que tienen mayor riesgo de crecimiento de microorganismos si no se conservan adecuadamente.

Según **Stubsgaard, F.(1997)** (54), la humedad determina las actividades fisiológica y bioquímica de las plantas, por lo que determinar el porcentaje de humedad es un indicador relativo de la cantidad de agua y sustancias que participan en el metabolismo de las plantas, bajo la acción de enzimas. Por lo tanto, el proceso de secado es de gran importancia porque además de lo mencionado, el porcentaje de humedad es un factor que crea condiciones favorables para el crecimiento de bacterias y hongos, así como también se formen reacciones de oxidación e hidrólisis.(54)

Se tomaron las medidas necesarias para el manejo y secado de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) para evitar la degradación y cambios de metabolitos de la especie vegetal en estudio.

4.2. PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

4.2.1. Porcentaje de rendimiento del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Los resultados del porcentaje de rendimiento del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy). Se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Extracción} = \frac{\text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100$$

Donde:

- **%E** = Porcentaje de extracción
- **Pf** = Peso final del extracto
- **Pi** = Peso inicial de la muestra seca molida

TABLA N°5: Resultado del porcentaje de rendimiento del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

ESPECIE VEGETAL	PESO INICIAL DE LA MUESTRA MOLIDA	PESO FINAL DEL EXTRACTO GLICOLICO	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO
<i>Senna birostris</i> (Mutuy)	150 g	90,260 g	60.17 %

Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la tabla N° 5 se puede observar que el porcentaje de rendimiento del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) obtenido por maceración con propilénglicol, es de 60.17% respectivamente. Según **Salvat, A. (2018)** (55), el porcentaje de rendimiento del extracto del género *Senna* fue de 53,6% hasta 83.6%, el cual recolectó su muestra vegetal a inicio de brote a diferencia de nuestra muestra vegetal de investigación que se recolectó en la etapa de floración. Las variantes que intervienen en el rendimiento de extracción: La época de recolección, el lugar geográfico, temperatura y el tipo de extracción, determinan el porcentaje de rendimiento.(55).

Este resultado nos indica que extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) tiene un porcentaje de rendimiento aceptable. Por lo tanto, no requiere pequeñas cantidades de material vegetal para obtener un extracto orgánico adecuado para los estudios de bioactividad.

4.3. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

4.3.1. Pruebas de solubilidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Se utilizaron diferentes solventes de diferente polaridad para determinar la solubilidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), obteniéndose los siguientes resultados.

TABLA N°6: Resultado de solubilidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

SOLVENTE	EXTRACTO GLICOLICO DE <i>Senna birostris</i> (Mutuy)
Agua destilada	+++
Metanol	++
Etanol absoluto	+
Etanol de 96%	+
Etanol 70%	+++
Acetona	-
Acetato de etilo	+
Cloroformo	+
Hexano	-

Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023. (ANEXO 6)

DONDE:

- **Muy soluble** : +++
- **Parcialmente soluble** : ++
- **Poco soluble** : +
- **Insoluble** : -

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la tabla N°6 se muestra que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) obtenido por maceración con propilenglicol y agua destilada (50:50) es muy soluble en agua destilada y etanol al 70%. Además, es parcialmente soluble en metanol, poco soluble en etanol absoluto, etanol al 96%, acetato de etilo y cloroformo, e insoluble acetona y hexano. Según **Gonzales Díaz N, Silva Villacrés J. (2021)** (56), el extracto de la muestra vegetal de *Senna alata* L., es muy soluble en etanol al 70%, parcialmente soluble en metanol, cloroformo y acetato de etilo.(56)

Según el resultado de la muestra el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) es parcialmente polar (Agua destilada, metanol, etanol absoluto, etanol al 70% y etanol 96%) y esta solubilidad se ve disminuida en solventes apolares (Acetato de etilo, cloroformo, acetona y hexano).

4.4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO

4.4.1. Análisis fitoquímico cualitativo del extracto glicólico de *Senna birostris* (Mutuy)

Este análisis fitoquímico se realizó para determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) y se encontraron los siguientes resultados.

TABLA N°7: Resultado del análisis fitoquímico del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVO	EXTRACTO GLICÓLICO DE <i>Senna birostris</i> (Mutuy)
Compuestos Fenólicos	Cloruro férrico 1%	++
Flavonoides	Reacción de Shinoda	++
Alcaloides	Dragendorf	-
Triterpenos y Esteroides	Lieberman - Burchart	+
Saponinas	Prueba de espuma	+
Taninos	Gelatina	-
Quinonas	Hidróxido de potasio	-

Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023. (ANEXO 6)

DONDE:

- **Abundante** : +++
- **Poco** : ++
- **Muy poco** : +
- **Ausente** : -

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

El análisis fitoquímico es un procedimiento muy importante para la detección de metabolitos secundarios y se utilizaron reactivos específicos para identificar cada compuesto. Obteniendo resultados de coloración, reacciones específicas y otras precipitaciones.(46)

El análisis fitoquímico en el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), se muestra en la tabla N° 7, se puede observar poca cantidad de metabolitos secundarios en compuestos fenólicos y flavonoides, mientras que muy poca cantidad en triterpenos, esteroides y saponinas; y ausencia en alcaloides, taninos y quinonas.

Según **Oladeji OS, Adelowo FE, Oluyori AP. (2021)** (57), el género *Senna* (Fabaceae) contiene metabolitos importantes como compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides, triterpenos y saponinas.(57)

Según **Lock Sing de Ugaz O. (1994)** (46), los compuestos fenólicos y los flavonoides son sintetizados por las plantas, especialmente en hojas, flores y polen (46). Esto ocurre porque los compuestos fenólicos y flavonoides se sintetizan en la planta en respuesta a una infección microbiana. Esto puede deberse a su actividad a través de la formación de complejos con proteínas extracelulares solubles, así como formar complejos con la pared celular bacteriana, de las cuales los flavonoides más lipófilicos destruyen la membrana celular. Además, los compuestos fenólicos y flavonoides tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres.(46)

Según estos resultados podemos asumir que, por la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides, se puede demostrar que nuestro extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) presenta actividad antioxidante y antibacteriana, la cual se corrobora con las pruebas posteriores.

4.5. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (MUTUY)

4.5.1. RESULTADOS DEL PATRÓN ÁCIDO ASCORBICO

4.5.1.1. Curva de Calibración del patrón Ácido Ascórbico

Los resultados de la curva de calibración del patrón ácido ascórbico se muestran en el siguiente gráfico.

GRÁFICO N°1: Resultado de la Curva de Calibración del Patrón Ácido Ascórbico



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

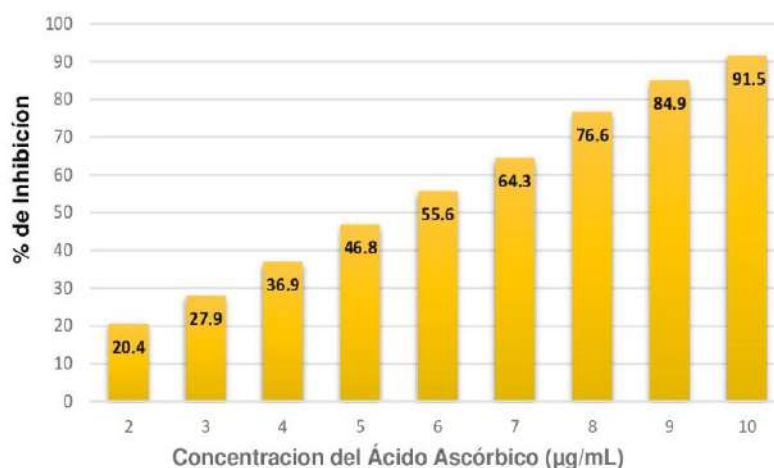
ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

El gráfico N°1 muestra la relación entre la concentración y el porcentaje de inhibición del radical DPPH del ácido ascórbico. Se obtiene un Coeficiente de determinación $R^2 = 0.9985$, un valor cercano a la unidad, lo que indica una correlación positiva entre ambas variables. Esto nos permite entender que la fuerza de relación entre ambas variables es del 99.8%, lo que indica que la actividad antioxidante del patrón ácido ascórbico depende estrictamente de la concentración. Según **Gutiérrez Pulido, H., & Salazar, V. (2012)** (58), el Coeficiente de determinación (R^2) se utiliza para evaluar la correlación lineal entre dos variables cuantitativas. Este coeficiente sólo se utiliza para determinar si existe una relación lineal entre ambas variables. (58).

Según este resultado la curva de calibración se utiliza para evaluar la linealidad y la interacción que hay entre la concentración y el porcentaje de inhibición del radical DPPH.

4.5.1.2. Porcentaje de Actividad de captación del radical libre DPPH del patrón Ácido Ascórbico

GRÁFICO N°2: Resultado del porcentaje de Inhibición del radical DPPH del Patrón Ácido Ascórbico



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

El gráfico N° 2 muestra que el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH por el ácido ascórbico determinada a diferentes concentraciones: 2µg/mL, 3µg/mL, 4µg/mL, 5µg/mL, 6µg/mL, 7µg/mL, 8µg/mL, 9µg/mL y 10µg/mL obteniéndose porcentajes de inhibición de 20.4%, 27.9%, 36.9%, 46.8%, 55.6%, 64.3%, 76.6%, 84.9% y 91.5%, respectivamente. Se puede observar que a medida que aumenta la concentración del patrón, también aumenta el porcentaje de inhibición, de lo que se puede concluir que cuanto mayor es la concentración del ácido ascórbico, mayor es la capacidad antioxidante.

Según **Huamán Palomino, René F. (2013)** (18), en su estudio sobre la actividad antioxidante de la especie vegetal *Senna alata L.* "mutuy" mediante el método DPPH reporta el uso de ácido ascórbico como patrón, en el que se trabajó a diferentes concentraciones: 10µg/mL, 50µg/mL, y 100µg/mL obteniéndose porcentajes de inhibición de 99%, 98,5% y 99,1% respectivamente.(18)

Como podemos observar existe una similitud en los resultados frente al porcentaje de inhibición del radical libre DPPH por el ácido ascórbico, concluyéndose así que el patrón ácido ascórbico tiene actividad antioxidante.

4.5.2. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (MUTUY)

4.5.2.1. Absorbancia y porcentaje de captación del radical libre DPPH del Extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

TABLA N°8: Resultado de absorbancia y porcentaje de captación del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Concentración del Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	Absorbancia		Porcentaje de Inhibición	Promedio de las Absorbancias de la muestra (nm)	Promedio del porcentaje de Inhibición
	N° Tubos	Absorbancia de la muestra			
20 µg/mL	1	0.826	23.5%	0.841	22.1%
	2	0.851	21.2%		
	3	0.840	22.2%		
	4	0.836	22.6%		
	5	0.854	20.9%		
30 µg/mL	1	0.791	25.9%	0.759	28.9%
	2	0.762	28.7%		
	3	0.721	32.5%		
	4	0.758	29.0%		
	5	0.765	28.4%		
40 µg/mL	1	0.702	33.5%	0.678	35.7%
	2	0.670	36.5%		
	3	0.673	36.2%		
	4	0.672	36.3%		
	5	0.674	36.1%		
50 µg/mL	1	0.604	42.4%	0.599	42.8%
	2	0.595	43.2%		
	3	0.599	42.8%		
	4	0.601	42.7%		
	5	0.596	43.1%		
60 µg/mL	1	0.538	48.3%	0.522	49.8%
	2	0.527	49.3%		
	3	0.521	49.9%		
	4	0.522	49.8%		
	5	0.503	51.6%		

70 µg/mL	1	0.459	55.6%	0.450	56.4%
	2	0.452	56.2%		
	3	0.442	57.2%		
	4	0.448	56.6%		
	5	0.451	56.3%		
80 µg/mL	1	0.418	59.5%	0.399	61.3%
	2	0.396	61.6%		
	3	0.400	61.2%		
	4	0.397	61.5%		
	5	0.384	62.8%		
90 µg/mL	1	0.342	64.6%	0.329	65.9%
	2	0.319	67.0%		
	3	0.326	66.3%		
	4	0.328	66.0%		
	5	0.332	65.6%		
100 µg/mL	1	0.269	71.8%	0.277	71.0%
	2	0.273	71.4%		
	3	0.275	71.1%		
	4	0.283	70.3%		
	5	0.283	70.3%		
Abs (DPPH)	1.080				

Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

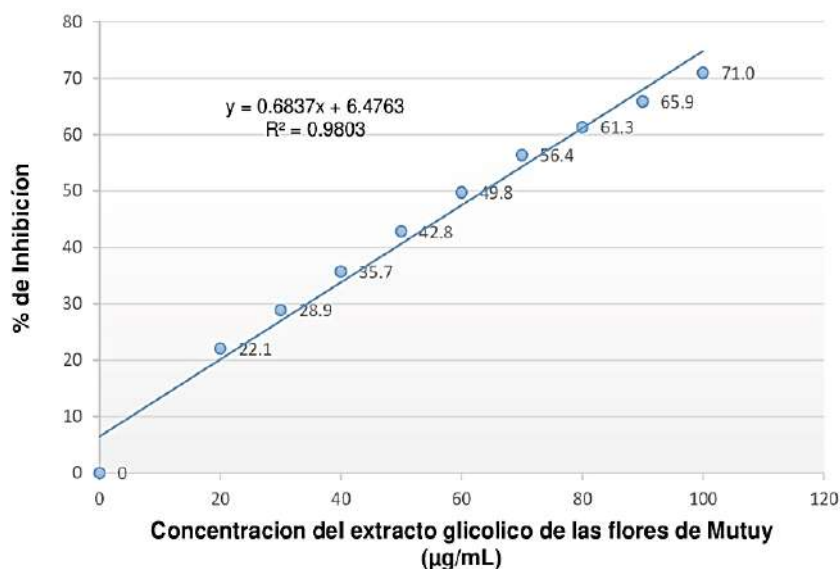
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la tabla N°8 se muestran los valores de absorbancia obtenidos de las pruebas realizadas por quintuplicado, obtenidas con un espectrofotómetro a 517nm, para las concentraciones recomendadas para el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), estos valores nos ayudaron a calcular el porcentaje de captación del radical libre DPPH. Se realizaron lecturas por quintuplicado en nueve concentraciones diferentes que iniciaron en 20µg/mL, 30µg/mL, 40µg/mL, 50µg/mL, 60µg/mL, 70µg/mL, 80µg/mL, 90µg/mL y 100µg/mL. Las absorbancias correspondientes fueron de 0.841, 0.759, 0.678, 0.599, 0.522, 0.450, 0.399, 0.329 y 0.277 nm según la concentración. Obteniéndose porcentajes de inhibición de 22.1%, 28.9%, 35.7%, 42.8%, 49.8%, 56.4%, 61.3%, 65.9% y 71.0% respectivamente. Se puede observar que a medida que aumenta la concentración del extracto glicólico, también aumenta el porcentaje de actividad antioxidante, de lo que se puede concluir que cuanto mayor es la concentración del extracto glicólico, mayor será la capacidad antioxidante. Para esta prueba se usa el DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), como indicador de la reacción por ser

un agente de estrés oxidativo y se utiliza para evaluar la actividad antioxidante en productos naturales y compuestos sintéticos.(34)

4.5.2.2. Curva de captación del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

GRÁFICO N°3: Resultado de la Curva de captación del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

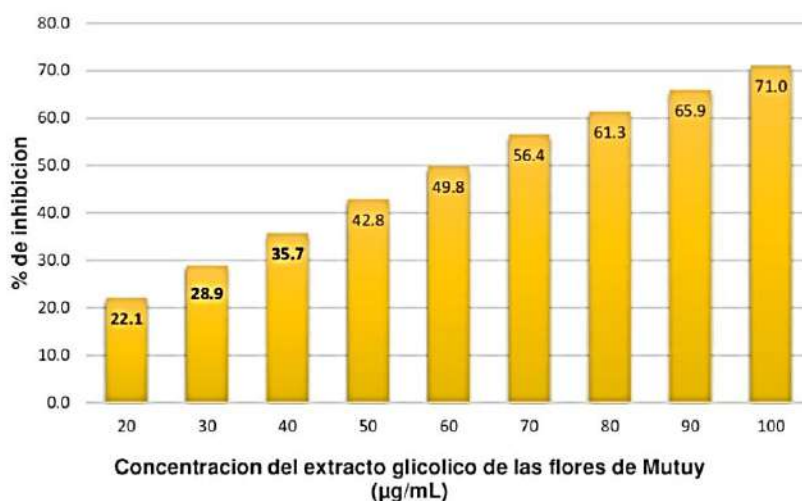
ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

El gráfico N°3 muestra la relación entre la concentración y el porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy). Se obtiene un Coeficiente de determinación $R^2 = 0.9803$, un valor cercano a la unidad, lo que indica una correlación positiva entre ambas variables. Esto nos permite entender que la fuerza de relación entre ambas variables es del 98.03%, lo que indica que la actividad antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) depende estrictamente de la concentración. Según **Gutiérrez Pulido, H., & Salazar, V. (2012)** (58), el Coeficiente de determinación (R^2) se utiliza para evaluar la correlación lineal entre dos variables cuantitativas. Este coeficiente sólo se utiliza para determinar si existe una relación lineal entre ambas variables.(58).

Según este resultado la curva de calibración se utiliza para evaluar la linealidad y la interacción que hay entre la concentración y el porcentaje de inhibición del radical DPPH.

4.5.2.3. Porcentaje de Actividad de captación del radical DPPH del Extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

GRÁFICO N°4: Resultado del porcentaje de Inhibición del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

El gráfico N°4 muestra que el porcentaje de inhibición de radicales libre DPPH del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) determinada a diferentes concentraciones: 20µg/mL, 30µg/mL, 40µg/mL, 50µg/mL, 60µg/mL, 70µg/mL, 80µg/mL, 90µg/mL y 100µg/mL obteniéndose porcentajes de inhibición de 22.1%, 28.9%, 35.7%, 42.8%, 49.8%, 56.4%, 61.3%, 65.9% y 71.0% respectivamente. Se puede observar que a medida que aumenta la concentración del extracto glicólico, también aumenta el porcentaje de actividad antioxidante, de lo que se puede concluir que cuanto mayor es la concentración del extracto glicólico, mayor será la capacidad antioxidante.

Según **Prasathkumar et al., (2021)** (12), en su estudio sobre la actividad antioxidante de la especie vegetal *Senna auriculata* (L) Roxb mediante el método DPPH, en el cual se mostró a diferentes concentraciones: 100µg/mL, 200µg/mL, 300µg/mL, 400µg/mL y 500µg/mL obteniéndose porcentajes de inhibición de 62,36%, 69,28%, 73,16%, 88,78% y 96,33% respectivamente.(12)

Según **Huamán Palomino, René F. (2013)**, en su estudio sobre la actividad antioxidante de la especie vegetal *Senna alata* L. "mutuy" mediante el método DPPH, en el que se trabajó a diferentes concentraciones: 10µg/mL, 50µg/mL y

100µg/mL obteniéndose porcentajes de inhibición de 53.4%, 94% y 95.8% respectivamente.(18)

Según **Macedo E.M.S. (2006)** (15), en su estudio sobre la actividad antioxidante de las flores de *Senna martiana* (Benth) mediante el método DPPH, en el cual se mostró un mayor porcentaje de inhibición de 96.1% respectivamente.(15)

Como se puede observar existen similitudes en los resultados del porcentaje de inhibición, concluyéndose así que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) tiene actividad antioxidante.

4.5.3. COMPARACIÓN DEL PORCENTAJE DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

4.5.3.1. Comparación del porcentaje de Actividad de captación del radical DPPH entre el Ácido Ascórbico y el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

TABLANº9: Comparación del porcentaje de inhibición entre el Ácido Ascórbico y el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Ácido Ascórbico (µg/mL)	Promedio del % de inhibición	Extracto glicólico (µg/mL)	Promedio del % de inhibición
2	20.4%	20	22.1%
3	27.9%	30	28.9%
4	36.9%	40	35.7%
5	46.8%	50	42.8%
6	55.6%	60	49.8%
7	64.3%	70	56.4%
8	76.6%	80	61.3%
9	84.9%	90	65.9%
10	91.5%	100	71%

Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la tabla Nº9 se muestra que, al comparar el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) y del patrón ácido ascórbico expresados en porcentajes, se observa que el ácido ascórbico presenta mayor actividad antioxidante con un porcentaje de inhibición de 91.5% a una concentración de 10 µg/mL en comparación con el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) con un porcentaje de inhibición

de 71% a una concentración de 100µg/mL con una diferencia entre ambos de 20.5%.

Según **Huamán Palomino, René F. (2013)** (18), en su estudio sobre la actividad antioxidante, muestra que el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH de la especie vegetal *Senna alata* L. "mutuy" y del patrón ácido ascórbico expresados en porcentajes, se observa que el ácido ascórbico presenta mayor actividad antioxidante con un porcentaje de inhibición de 99% a una concentración de 10µg/mL en comparación con el extracto de *Senna alata* "Mutuy" con un porcentaje de inhibición de 95.8% a una concentración de 100µg/mL con una diferencia entre ambos de 3.2%.(18)

Por lo tanto, los resultados obtenidos al ser comparados muestran que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) es una mezcla de compuestos bioactivos. Es decir, los metabolitos secundarios presentes en la actividad antioxidante que se encuentran inmersos dentro del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) y están presentan en concentraciones menores en comparación con el patrón ácido ascórbico que es un compuesto químico puro.(35)

4.5.4. VALOR DE CONCENTRACIÓN DE INHIBICIÓN 50 (IC50 o CI50)

4.5.4.1. Resultados de la comparación equivalente de la concentración de inhibición 50 (IC50 o CI50) del Ácido Ascórbico y del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

TABLA N°10: Resultados de la comparación equivalente de la concentración de inhibición 50 del Ácido Ascórbico y del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Muestra	Nº Tubos	Porcentaje de Inhibición	Promedio del Porcentaje de Inhibición	Extracto Glicólico de <i>Senna birostris</i> IC50 (µg/mL)	Nº Tubos	Porcentaje de Inhibición	Promedio del Porcentaje de Inhibición	Ácido Ascórbico IC50 (µg/mL)
<i>Senna birostris</i> (Mutuy)	1	48.3%	49.8%	63.65 µg/mL	1	45.3%	46.8%	5.35 µg/mL
	2	49.3%			2	46.3%		
	3	49.9%			3	46.9%		
	4	49.8%			4	46.8%		
	5	51.6%			5	48.7%		

Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023 (ANEXO 9)

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la tabla N°10 se muestran los resultados de la concentración de inhibición 50 (IC50 o CI50) de la muestra del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), en comparación con la concentración de inhibición 50 (IC50 o CI50) del patrón ácido ascórbico. Por lo tanto, de la concentración de 60µg/mL del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), se obtuvo porcentajes de inhibición de 48.3%, 49.3%, 49.9%, 49.8% y 51.6% donde se trabajó por quintuplicado. El porcentaje de inhibición de la concentración de 60µg/mL tiene un IC50 o CI50 de 5.3464µg/mL, 5.3475µg/mL, 5.3481µg/mL, 5.3480µg/mL y

5.350µg/mL respectivamente, que fue equivalente al patrón ácido ascórbico que presento un IC50 de 5.35 µg/mL respectivamente.

Según **Naspud Rojas.E. (2018)** (59), en su estudio sobre la actividad antioxidante indicaron que el valor de IC50 es la concentración del 50% de la captación del radical DPPH, por lo que un valor de IC50 bajo refleja una alta actividad antioxidante.(59)

Según **Huamán Palomino, René F. (2013)** (18), en su estudio sobre la actividad antioxidante, muestra que la especie vegetal *Senna alata L.* "mutuy" presento un IC50 de 2.25 µg/mL y del patrón ácido ascórbico presento un IC50 de 3.99 µg/mL.(18). Este resultado nos sirve como referencia para comparar la actividad antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) que presenta una excelente capacidad antioxidante.

4.5.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (MUTUY)

4.5.5.1. Análisis descriptivos para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

TABLA N°11: Resultados descriptivos para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Concentración del extracto (µg/mL)	N	Media	Desviación de Estándar	Desviación de Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
20	5	22,0800	1,05688	,47265	20,7677	23,3923	20,90	23,50
30	5	28,9000	2,35903	1,05499	25,9709	31,8291	25,90	32,50
40	5	35,7200	1,24980	,55893	34,1682	37,2718	33,50	36,50
50	5	42,8400	,32094	,14353	42,4415	43,2385	42,40	43,20
60	5	49,7800	1,19875	,53610	48,2916	51,2684	48,30	51,60
70	5	56,3800	,58481	,26153	55,6539	57,1061	55,60	57,20
80	5	61,3200	1,18617	,53047	59,8472	62,7928	59,50	62,80
90	5	65,9000	,88882	,39749	64,7964	67,0036	64,60	67,00
100	5	70,9800	,66858	,29900	70,1498	71,8102	70,30	71,80
Total	45	48,2111	16,24808	2,42212	43,3296	53,0926	20,90	71,80

Fuente: Resultados brindados por el programa estadístico SPSS-25

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la tabla N°11 se muestran los resultados estadísticos descriptivos de la actividad antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) obtenidos de pruebas realizadas por quintuplicado.

Donde la concentración de 20µg/mL presenta una media de menor actividad con un promedio menor de 22,08 y a una concentración de 100µg/mL presenta una media de mayor actividad con un promedio mayor de 70,98 de esta forma se puede observar que la desviación estándar de todos los grupos poseen valores muy bajos, siendo este parámetro una medida de dispersión que nos indica que los datos recopilados son muy cercanos a su media, esto significa que al realizar las pruebas por quintuplicado el porcentaje de Inhibición del radical DPPH son concentraciones dependientes.

Según **Huamán Palomino, René F. (2013)** (18), en su estudio sobre la actividad antioxidante de la especie vegetal *Senna alata* L. "mutuy" que también hace el uso del análisis descriptivo, la desviación estándar de todos sus grupos tiene valores muy bajos y son muy cercanos a su media.(18).

Tomando en cuenta estos resultados se podría confirmar la actividad antioxidante de la especie vegetal.

4.5.5.2. Análisis de Varianza (ANOVA) para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

TABLA N°12: Resultados del análisis de varianza (ANOVA) para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

ANOVA					
	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	11564,924	8	1445,616	1018,836	0,000
Dentro de grupos	51,080	36	1,419		
Total	11616,004	44			

Fuente: Resultados brindados por el programa estadístico SPSS-25

LEYENDA:

- **GI** = Grados de libertad.
- **F** = Distribución de Fisher.
- **Sig** = Significancia.
- **Sig** = > 0.05, no existe diferencia significativa.
- **Sig** = < 0.05, existe diferencia significativa.
- **Hipótesis nula (Ho)** = Tienen un efecto similar.
- **Hipótesis alterna (H1)** = No tienen un efecto similar.

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la tabla N°12 se muestra los resultados del análisis de varianza ANOVA del porcentaje de Inhibición del radical DPPH a la concentración del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), donde se observó un valor de significancia de 0.000, lo que indica que existe diferencia significativa con un valor que está dado por debajo de 0.05 (Sig = 0.000 < 0.05), por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (Ho), aceptando la hipótesis alterna, por lo tanto, se considera que la concentración del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) no tienen un efecto similar en la captación del radical libre de DPPH. Según **Huamán Palomino, René F. (2013)** (18), en su estudio sobre la actividad antioxidante de la especie vegetal *Senna alata* L. "mutuy" que también

hace el uso del análisis de varianza ANOVA reporta resultados con valor de significancia (Sig < 0.05).(18).

Por tal motivo se realizó la prueba Post Hoc de Tukey para determinar entre que grupos existe dichas diferencias.

4.5.5.3. Resultados de la prueba Post Hoc de Tukey para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

TABLA N°13: Resultados de la prueba Post Hoc de Tukey para la Actividad Antioxidante del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Post Hoc de Tukey										
Concentraciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
20	5	22,0800								
30	5		28,9000							
40	5			35,7200						
50	5				42,8400					
60	5					49,7800				
70	5						56,3800			
80	5							61,3200		
90	5								65,9000	
100	5									70,9800
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
a. Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.										
b. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 5,000.										

Fuente: Resultados brindados por el programa estadístico SPSS-25

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la tabla N°13 se muestran los resultados de la Prueba Post Hoc de Tukey, comparando la concentraciones y el porcentaje de Inhibición del radical DPPH del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), en la cual se observa la clasificación de las concentraciones en 9 grupos individuales, ninguno comparte el mismo grupo, existiendo heterogeneidad en todos los grupos ya que el valor de significancia es mayor de 0.05 (Sig = 1.000 > 0.05), por lo tanto no existe diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada grupo, lo que indica que cada grupo se comporta de manera diferente.

Según **Huamán Palomino, René F. (2013)** (18), en su estudio sobre la actividad antioxidante de la especie vegetal *Senna alata* L. "mutuy" que también hace el uso de la prueba Post Hoc de Tukey reporta resultados con valor de significancia (Sig > 0.05).(18).

Tomando en cuenta estos resultados se podría confirmar la actividad antioxidante de la especie vegetal.

4.6. CONTROL MICROBIOLÓGICO

4.6.1. RESULTADOS DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (MUTUY)

El extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) han sido probados para determinar si contienen contaminantes microbiológicos, según los criterios estipulados que se encuentran en la DIGESA.(50)

TABLA N°14: Resultados del Control Microbiológico del Extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

CRITERIOS	RESULTADOS EN LA DILUCIÓN 10^{-1}	LIMITES MICROBIOLÓGICOS PERMISIBLES (LMP)	OBSERVACIONES
Criterio Imperativo	Ausencia de <i>Salmonella</i> spp	<i>Salmonella</i> spp: Ausencia	Las muestras cumple los LMP
Criterios Indicativos de higiene	Número de coliformes fecales	<i>Escherichia coli</i> : Ausencia	Las muestras cumple los LMP
Criterio de alerta o Limites críticos	Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos viables: $< 10^{-2}$ UFC	$10^{-4} - 10^{-1}$ UFC	Las muestras cumple los LMP
	Recuento de hongos y levaduras $< 10^{-2}$ UFC	$10^{-2} - 10^{-3}$ UFC	Las muestras cumple los LMP

Fuente: Resultado de Control Microbiológico (ANEXO 9)

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la tabla N°14, presenta los resultados del análisis microbiológico que se llevó a cabo la detección de salmonella, coliformes fecales, mesófilos viables, hongos y levaduras dando resultado negativo lo cual confirmo que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) no está contaminado por estos microorganismos. El extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) se encuentra dentro de los límites de aceptación de los criterios imperativos,

criterios indicativos de higiene y criterios de alerta o límites, aprobados por el control de calidad a nivel microbiológico determinado por el ministerio de salud y DIGESA.(50). Esto nos permitió concluir que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) es adecuado para determinar la actividad antioxidante y actividad antibacteriana in vitro.

4.7. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (MUTUY)

4.7.1. RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (MUTUY) FRENTE A LA CEPA DE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

TABLA N°15: Resultado de los diámetros de los halos de inhibición del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

BACTERIA	N	Concentración del extracto	Diámetro de los halos de inhibición (mm) en cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923			
			IG	IIG	IIIG	PROMEDIO
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	Eritromicina (15ug)	28.11	25.9	26.11	26.70
	2	25%	6	6	6	6
	3	50%	6.5	6.5	6.5	6.5
	4	75%	8.6	8.6	8.6	8.6
	5	100%	9	9	9	9

Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

DONDE:

- **IG** : Primer grupo de halos de inhibición.
- **IIG** : Segundo grupo de halos de inhibición.
- **IIIG**: Tercer grupo de halos de inhibición.

ANÁLISIS, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN:

En la Tabla N°15 se muestran los resultados de halos de inhibición del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Por lo tanto, se observa que el control positivo de (Eritromicina 15ug/25ul) obtuvo un halo de inhibición promedio de 26.70 mm y con el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) a

una concentración del 100% con un halo de inhibición promedio de 9 mm, también se pudo observar un halo de inhibición a una concentración del 75% con un promedio de 8.6 mm, 50% con un halo de inhibición promedio de 6.5 mm y 25% con un halo de inhibición promedio de 6 mm, que fueron medidos con un Vernier. Según el Comité Nacional del Control de Estándares de Laboratorio **(NCCLS) (2000)**.(60), el diámetro crítico para *Staphylococcus aureus* se determina utilizando como patrón estándar a la eritromicina.

TABLA N°16: Patrón estándar de halos de inhibición para *Staphylococcus aureus*

Fármaco	Diámetros de halo de inhibición (mm)		
	Resistente	intermedio	sensible
Eritromicina (15ug/25ul)	≤ 13	14 - 22	≥ 23

Fuente: Procedimiento Microbiológico – elaborado con los datos del (NCCLS), 2000.(60)

Según nuestros resultados utilizando el fármaco patrón eritromicina y comparado con los datos del Comité Nacional del Control de Estándares de Laboratorio **(NCCLS), 2000**.(60), se encontró que la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es sensible al fármaco patrón de Eritromicina.

Para la clasificación de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, se tomó en cuenta los criterios de **Toda y Col (1994)** (61) (ANEXO 12). Se observa que a la concentración del 75% presenta un halo de inhibición promedio de 8.6 mm y a una concentración del 100% presenta un halo de inhibición promedio de 9mm. Según los criterios de **Toda y Col (1994)** se considera una ligera actividad antibacteriana cuando los halos de inhibición son de 8 – 12 mm.

Según **Makinde, A. A., et al. (2007)** (62), en su estudio sobre la actividad antibacteriana de la especie vegetal *Senna alata* L. mostraron resultados de halos de inhibición de 5 mm hasta 10 mm por lo que se concluye que si presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus*.(62).

Por lo tanto, se demostró que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) presenta una ligera actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. La actividad antibacteriana de nuestra especie vegetal podría deberse a la presencia de los compuestos fenólicos y flavonoides que se encontró en el análisis fitoquímico cualitativo.

4.7.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (MUTUY)

4.7.2.1. Resultados del Análisis Descriptivo para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

TABLA N°17: Resultados descriptivos para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

	N	Media	Desviación de Desviación	Desviación de Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Eritromicina	3	26,7067	1,21985	,70428	23,6764	29,7369	25,90	28,11
25%	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
50%	3	6,5000	,00000	,00000	6,5000	6,5000	6,50	6,50
75%	3	8,6000	,00000	,00000	8,6000	8,6000	8,60	8,60
100%	3	9,0000	,00000	,00000	9,0000	9,0000	9,00	9,00
Total	15	11,3613	8,04517	2,07725	6,9061	15,8166	6,00	28,11

Fuente: Resultados brindados por el programa estadístico SPSS-25

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la Tabla N°17 se muestran los resultados descriptivos de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), obtenidos a partir de las pruebas realizadas por triplicado.

Donde la concentración del 25% presenta una media con un halo de inhibición de menor actividad con un promedio menor de 6 mm y a una concentración del 100% que presta un halo de inhibición de mayor actividad con un promedio mayor de 9 mm, de esta forma se distingue que el diámetro de halo de inhibición entre la media de la actividad menor y mayor son concentraciones dependientes.

Con respecto al fármaco patrón de eritromicina mostraron resultados de halos de inhibición de 26.70 mm, por lo que la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 es sensible al fármaco patrón de eritromicina según el procedimiento microbiológico.(60).

Donde se interpreta que las desviaciones estándar de todos los grupos poseen valores muy bajos, siendo este parámetro una medida de dispersión que nos indica que los datos recopilados son muy cercanos a su media, esto significa que al realizar las pruebas por triplicado se obtuvo concentraciones dependientes. Tomando en cuenta estos resultados se podría confirmar la actividad antibacteriana de la especie vegetal.

4.7.2.2. Resultados del Análisis de Varianza (ANOVA) para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

TABLA N°18: Resultados del análisis de Varianza (ANOVA) para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ANOVA					
	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	903,170	4	225,792	758,694	0,000
Dentro de grupos	2,976	10	,298		
Total	906,146	14			

Fuente: Resultados brindados por el programa estadístico SPSS-25

LEYENDA:

- **GI** = Grados de libertad.
- **F** = Distribución de Fisher.
- **Sig** = Significancia.
- **Sig** = > 0.05, no existe diferencia significativa.
- **Sig** = < 0.05, existe diferencia significativa.
- **Hipótesis nula (Ho)** = Tienen un efecto similar.
- **Hipótesis alterna (H1)** = No tienen un efecto similar.

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la Tabla N°18 se muestra los resultados de varianza de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), donde se observa que el valor de significancia es de 0.000, lo que indica que existe diferencia significativa con un valor que está dado por debajo de 0.05 (Sig = 0.000 < 0.05), por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (Ho), aceptando la hipótesis alterna, por lo tanto, se considera que la concentración del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) no tienen un efecto similar sobre los halos que inhiben el crecimiento.

Por tal motivo se realizó la prueba Post Hoc de Tukey para determinar entre que grupos existe dichas diferencias.

4.7.2.3. Resultados de la Prueba Post Hoc de Tukey para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

TABLA N°19: Resultados de la Prueba Post Hoc de Tukey para la Actividad Antibacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Post Hoc de Tukey				
Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
25%	3	6,0000		
50%	3	6,5000		
75%	3		8,6000	
100%	3		9,0000	
Eritromicina	3			26,7067
Sig.		,792	,891	1,000
a. Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
b. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 3,000.				

Fuente: Resultados brindados por el programa estadístico SPSS-25

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la Tabla N°19 se muestra los resultados de la Prueba Post Hoc de Tukey, comparando las concentraciones del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), en la cual se observa la clasificación de las concentraciones en 3 grupos individuales. En el grupo 1 se observó que a una concentración de 25% y 50% comparten el mismo grupo, lo que demostró homogeneidad en el tamaño

promedio de los halos de inhibición, y en el grupo 2 se observó que a una concentración de 75% y 100% comparten el mismo grupo, lo que demostró homogeneidad en el tamaño promedio de los halos de inhibición y el patrón eritromicina está en un grupo individual. Se observó homogeneidad en los grupos 1 y 2 con un valor de significancia mayor a 0.05 (Sig = 1.000 > 0.05). Se excluyó el grupo 3 porque solo se encuentra conformado por la medida de los halos frente a eritromicina. Además, podemos observar que el grupo 2 está conformado por la concentración que presenta una ligera actividad antibacteriana según **Toda y Col (1994)** (61) (ANEXO 12) considera una ligera actividad antibacteriana cuando los halos de inhibición son de 8 – 12 mm.

CONCLUSIONES

1. El extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) presenta actividad antioxidante y antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. El porcentaje de humedad de las flores de la especie vegetal de *Senna birostris* (Mutuy) fue de 78.15%. En cuanto a la prueba de solubilidad del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy), es muy soluble en agua destilada y etanol al 70%, parcialmente soluble en metanol, poco soluble en etanol absoluto, etanol al 96% y acetato de etilo e insoluble en acetona y hexano y en el análisis fitoquímico cualitativo, se determinó que existe poca cantidad de compuestos fenólicos y flavonoides, muy poca cantidad de triterpenos y esteroides, saponinas y ausencia de alcaloides, taninos y quinonas.
3. El extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) se obtuvo mediante el método de maceración con un rendimiento de 60.17%.
4. El extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) tiene actividad antioxidante con un porcentaje de captación del radical DPPH del 71% en una concentración de 100µg/mL en comparación con el ácido ascórbico, que tuvo 91.5% mayor que el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy).
5. La sensibilidad bacteriana del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) se determinó frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, donde presentó un diámetro de halo de inhibición mínimo de 6 mm a una concentración del 25%. El extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) presenta actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con un halo máximo de inhibición de 9 mm a la concentración del 100% en comparación con la actividad antibacteriana del fármaco patrón de eritromicina que presenta mayor actividad antibacteriana frente a la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, con un halo de inhibición de 26.70 mm.

SUGERENCIAS

A la Autoridades de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

- Implementar los laboratorios de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, con equipos dedicados a la investigación científica de especies vegetales de nuestra región, para facilitar la ejecución de los trabajos de investigaciones y su respectiva capacitación en condiciones favorables.

A los Docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

- Incentivar a los estudiantes a realizar más estudios de las especies nativas de la sierra del Perú, para así poder recabar mayor información de estas, así mismo al desarrollo de productos industrializados potencialmente beneficiosos para la salud.

A los Estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

- Realizar más estudios con diferentes métodos de extracción para la obtención de metabolitos secundarios de diferente naturaleza, así como también comparar sus actividades farmacológicas.
- Realizar más investigaciones con el fin de cuantificar y aislar los metabolitos secundarios en el extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) para evaluar los mecanismos de acción de los principios activos responsables de la actividad antioxidante y antibacteriana.
- Desarrollar y evaluar formulaciones farmacéuticas del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) como coadyuvante en el tratamiento de enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R, Paz E, Ananya N, Callalli M, et al. Huamantupa, I., Cuba, M., Urrunaga, R., Paz, E., Ananya, N., Callalli, M., ... & Coasaca, H. (2011). Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco. *Revista peruana de biología*, 18(3), 283-292. *Rev Peru Biol.* diciembre de 2011;18(3):283-92. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172799332011000300004&script=sci_arttext
2. Gamarra Condezo NH. Condezo, G., & Heridberta, N. (2017). Usos de plantas medicinales por usuarios externos del Hospital Regional Hermilio Valdizan Medrano-Huanuco, 2016. Univ Huánuco. Disponible en: <http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/651>
3. Cano, D. S., Bestard, C. M., Relis, E. P., Olivero, Y. D., Guzmán, V. G., & Rodríguez, A. C. (2009). Farmacología de las plantas medicinales. *Revista Información Científica*,61(1). Disponible en: [:https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=551757317013](https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=551757317013)
4. Huamán Enríquez Y, Oroche Soto YR. Determinación de la actividad antibacteriana in vitro de los extractores etanólicos y clorofórmicos de *Oenothera rosea* «Yawar Chonq'a» y *Geranium sessiliflorum* «Ojotillo» frente a *Staphylococcus aureus* cepa ATCC y *Escherichia coli* cepa ATCC y determinación de la toxicidad aguda por vía oral. Univ Nac San Antonio Abad Cusco. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/1712>
5. Holguín JM. Pachamama Hampi Qhoranchiskuna (Las plantas medicinales de nuestra madre tierra). Experiencias sobre cultivo ecológico de plantas medicinales y aromáticas andinas en el Valle Sagrado de los Incas, Cusco-Perú. *Rev Ciênc Agroveterinárias*. 2006; 5:32-41. Disponible en: <https://www.revistas.udesc.br/index.php/agroveterinaria/article/view/5594>.
Acesso em: 18 jan. 2024.
6. Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C. Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci IJBS*. junio de 2008;4(2):89-96. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3614697/>

7. Guevara M, Garrido G, Rodríguez PC, Riaño A, Álvarez A, Delgado R, et al. Efecto de la Crema Antioxidante Vimang® en Enfermedades Dermatológicas. Lat Am J Pharm. 2007;26. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/26/2/LAJOP_26_2_1_11_RE9U8F32F_T.pdf
8. Paganini M, Della L P, Muller O B, Ezcurra G, Uranga M, Aguirre C, et al. Infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina adquiridas en la comunidad en niños antes sanos y en niños relacionados al hospital en la Argentina. Rev Chil Infectol. octubre de 2009;26(5):406-12. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071610182009000600002&script=sci_arttext&tlng=pt
9. Mathez, S. L., & Huamán, M. (2018). " Qora Hampiyku": Nuestras plantas medicinales en las comunidades de Pitumarca, Cusco, Perú. Disponible en: https://issuu.com/cde.unibe.ch/docs/plantas_medicinales_pitumarca_cusc
10. Reynel C, Marcelo J . Arboles de los ecosistemas forestales andtnos. Manual de identification de especies. Serie investigation y Sistematization N°9. Programa Regional Peru: Ecobona Intercooperation; 2009. Disponible en: https://issuu.com/heliconcus/docs/arboles_de_los_ecosistemas_forestal
11. Towanou R, Konmy B, Yovo M, Dansou CC, Dougnon V, Loko FS, et al. Phytochemical Screening, Antioxidant Activity, and Acute Toxicity Evaluation of *Senna italica* Extract Used in Traditional Medicine. J Toxicol. 17 de marzo de 2023;2023:e6405415. Disponible: <https://www.hindawi.com/journals/jt/2023/6405415/>
12. Prasathkumar, M., Raja, K., Vasanth, K., Khusro, A., Sadhasivam, S., Sahibzada, M. U. K., ... & Elshikh, M. S. (2021). Phytochemical screening and in vitro antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, anti-diabetic, and wound healing attributes of *Senna auriculata* (L.) Roxb. leaves. Arabian Journal of Chemistry, 14(9), 103345. Arab J Chem. 1 de septiembre de 2021;14(9):103345. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535221003609>
13. Madankumar et al. - In-vitro Antioxidant and Anticancer Activity from .pdf. Disponible en: <https://jespublication.com/upload/2020-110341>.
14. Lombardo M., Kiyota S., Kato E.T.M., Mathor M.B., Pinto T.D.J.A., & Kaneko T.M. Evaluation of in vitro biological properties of *Senna occidentalis* (L.) Link.

- Acta Scientiarum. Biological Sciences, 2015, 37(1), 9-13. Disponible en: <http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciBiolSci/article/view/22525>
15. Macedo EMS. Macedo, E. M. S. Estudio Químico de Plantas do Nordeste com atividade antioxidante: *Senna martiana* Benth (L. e B) Disertación de Maestría en Química Orgánica, Centro de Ciencias, Universidad Federal de Ceará, Fortaleza, Brasil, 2006. Disponible en: <https://repositorio.ufc.br/handle/riufc/11501>
 16. Chuquilín-Goicochea R, Ccente-Lulo F, Arteaga-Llacza P, Huayta F, Tinoco HAO. Chuquilín-Goicochea, R., Ccente-Lulo, F., Arteaga-Llacza, P., Huayta, F., & Tinoco, H. A. O. (2021). Caracterización química y reológica del hidrocoloide de *Senna birostris*. Manglar, 18(2), 11-115. Manglar. 21 de junio de 2021;18(2):11-115. Disponible en: <https://erp.untumbes.edu.pe/revistas/index.php/manglar/article/view/231>
 17. Arcce BC. Campos Arcce, R. (2017). Contenido de antraquinonas en hojas y flores de *Senna alata* “mutuy” y *Senna birostris* “mutuy”, Ayacucho 2016. Disponible en: <https://repositorio.unsch.edu.pe/xmlui/handle/UNSCH/4122>
 18. Huamán Palomino RF. Actividad antioxidante e hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Senna alata* L. «mutuy». Ayacucho 2012. Disponible en: <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4620>
 19. Dueñas-Huanca, G., Cutire-Sumina, A. R., & Huamantupa-Chuquimaco, I. (2022). Estudio etnobotánico de plantas útiles en la comunidad campesina de Acopia, Acomayo, Cusco. GENTRYANA. 25 de enero de 2022;1(1):e210-e210. Disponible en: <https://revistas.unamad.edu.pe/index.php/gentryana/article/view/210>
 20. Colque Chevarría, O.V. Evaluación etnobotánica en las comunidades de Choquepata y Tipón, distrito de Oropesa, provincia de Quispicanchi-Cusco. Tesis. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. 2016. Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/2658/253T20160275.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 21. Achahuanco Casa, Miriam Nohely, and Patricia Stephany Aragón Portugal. «Actividad antibacteriana In Vitro de los extractos Etanólico y Glicólico de las hojas de la especie vegetal *Flourensia Polycephala* MO Dillon (Phauca) sobre cepas ATCC de *Staphylococcus aureos* y *Propionibacterium acnés*, y su

- relación con la actividad antioxidante.» Tesis. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. 2015. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/1686/253T20150131.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
22. Fenner, R., Betti, A. H., Mentz, L. A., & Rates, S. M. K. (2006). Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 42, 369-394. *Rev Bras Ciênc Farm.* septiembre de 2006;42(3):369-94. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/rbcf/a/wJNvTpbmpLVMC4t5W7Qnq5d/?lang=pt>
 23. Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural* (No. 615.321 K855F.). Barcelona: Omega; 2000. Disponible en: <http://www.ediciones-omega.es/botanica/95-farmacognosia-978-84-282-1191-8.html>
 24. Pasachova Garzón J, Ramírez Martínez S, Muñoz Molina L, Pasachova Garzón J, Ramírez Martínez S, Muñoz Molina L. *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova.* diciembre de 2019;17(32):25-38. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S179424702019000200025&script=sci_arttext
 25. Aureus S. *Staphylococcus aureus*. Curso de Microbiología Y Parasitología. Profesor Marco Silva G. *Staphylococcus aureus*. 2007. Disponible en: http://7staphylococcus.aureus.blogspot.com/2007/11/introduccion_9162.html
 26. Camarena, Juan; Sánchez, Roberto. Infección por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario Doctor Peset. Valencia, 1999, p. 1. Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/sarm.pdf>
 27. Cervantes-García E, García-González R, Salazar-Schettino PM. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=48300>
 28. Betancourt DOH, Cuesta LYU. Betancourt, O. H., Cuesta, Y. U., del Río Méndez, D., & del Carmen Galdós, M. (2005). *Staphylococcus aureus* y su identificación en los laboratorios microbiológicos. Revisión bibliográfica. *Archivo Médico de Camagüey*, 9(1). Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S102502552005000100016&script=sci_arttext

29. Olivera Delgado LI, Gutierrez Felix EG. Evaluación de la actividad antimicrobiana “In vitro” sobre cuatro cepas ATCC y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña). 2021. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/5580>
30. Jamanca Gonzales NC, Alfaro Cruz SC. Jamanca Gonzales, Nicodemo Crescencio; ALFARO CRUZ, Sarela Carmela. Antioxidantes en los alimentos. 2017. Univ Nac Barranca. Disponible en: <http://repositorio.unab.edu.pe/handle/20.500.12935/17>
31. Avello M, Suwalsky M. Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepción), (494), 161-172. Atenea Concepc. 2006;(494):161-72. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071804622006000200010&script=sci_arttext
32. Elejalde Guerra JI. Elejalde Guerra, J. I. (2001, June). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. In Anales de medicina interna (Vol. 18, No. 6, pp. 50-59). Arán Ediciones, SL. An Med Interna. junio de 2001;18(6):50-9. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S0212-71992001000600010&script=sci_arttext
33. Tovar del Río, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. Disponible en: <https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/28bb3599-16cd-4c41-9c48-0a0dc4a9b5e2/content>
34. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology, 28(1), 25-30. LWT - Food Sci Technol. 1 de enero de 1995;28(1):25-30. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643895800085>
35. Durán R, Borja Padilla R. Actividad antioxidante de las vitaminas C y E y de la provitamina A. Grasas Aceites. 30 de abril de 1993;44(2):107-11.

- Disponible en:
<https://pdfs.semanticscholar.org/2067/03d198f1edae2ede30a4168405377c87f918.pdf>
36. Juan C. Alvarado Alva. Farmacología. Cuarta Edición - Primera Reimpresión © 2017, . Editado por: Apuntes Médicos del Perú, de Juan C. Disponible en:<https://es.scribd.com/document/506306557/Libro-de-Apuntes-Farmacologia>
37. Al-Nawas, B., & Ziegler, A. (2011). Los antibióticos en odontología. Quintessence: Publicación internacional de odontología, 24(5), 252-263. Quintessence. 1 de mayo de 2011;24(5):252-63. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3639942>
38. Fernández, P. L. (2015). Velázquez. Farmacología básica y clínica. Ed. Médica Panamericana. Ed. Médica Panamericana; 2015. 1404 p. Disponible en:[https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=BeQ6D40wTPQC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Fern%C3%A1ndez,+P.+L.+\(2015\).+Vel%C3%A1zquez.+Farmacolog%C3%ADa+b%C3%A1sica+y+cl%C3%ADnica.+Ed.+M%C3%A9dica+Panamericana.+Ed.+M%C3%A9dica+Panamericana%3B+2015.+1404+p.&ots=LQiZctwQ7p&sig=gpGn_F6asQn10QhzPhT2rv8qIT0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=BeQ6D40wTPQC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Fern%C3%A1ndez,+P.+L.+(2015).+Vel%C3%A1zquez.+Farmacolog%C3%ADa+b%C3%A1sica+y+cl%C3%ADnica.+Ed.+M%C3%A9dica+Panamericana.+Ed.+M%C3%A9dica+Panamericana%3B+2015.+1404+p.&ots=LQiZctwQ7p&sig=gpGn_F6asQn10QhzPhT2rv8qIT0#v=onepage&q&f=false)
39. Rodríguez, J., & Gómez, M. (2016). Vademécum Médico del Perú. Disponible en:<https://booksmedicos.org/vademecum-farmacologico-peruano>.
40. Gutiérrez V, R J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cuba Med Mil. junio de 2002;31(2):126-33. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-65572002000200009&script=sci_arttext&tlng=pt
41. Montero-Recalde M, Vayas L, Avilés-Esquivel D, Pazmiño P, Erazo-Gutierrez V. Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. aureus. Rev Investig Vet Perú. octubre de 2018;29(4):1543-7. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S160991172018000400052&script=sci_arttext&tlng=pt
42. Villalobos et al. - EVALUACIÓN POR MÉTODO ECOMÉTRICO DE AGAR OBTENIDO .pdf. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/499/49912306.pdf>

43. Espinoza Mormontoy AL. Actividad antioxidante y antibacteriana in vitro del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Caioophora cirsiifolia* C. Presl “Ccori kisa” sobre cepas ATCC y cepas aisladas de *Staphylococcus aureus*. Univ Nac San Antonio Abad Cusco. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/3559>
44. Vivot, E. P., Sánchez, C., Cacik, F., & Sequin, C. (2012). Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Ciencia, docencia y tecnología*, (45), 131-146. *Cienc Docencia Tecnol.* diciembre de 2012;(45):131-46. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S185117162012000200008&script=sci_arttext&tIng=en
45. Ninantay Huaman KF, Ardiles Ayala L. Estudio comparativo in vitro de la actividad antibacteriana de los extractos acuosos liofilizados de *Pelargonium x hortorum* L.H. Bailey (Geranio) y *Senecio rhizomatus* Rusby (Tiqlaiwarmi) sobre cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes* y determinación de su capacidad antioxidante. Univ Nac San Antonio Abad Cusco.2018. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/3335>
46. Lock Sing de Ugaz O, Ciencias PUC del PD de. Investigación fitoquímica : métodos en el estudio de productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. Departamento de Ciencias; 1994. Disponible en: <https://repositorio.pucp.edu.pe/index/handle/123456789/181719>
47. Nuñez WJ, Quispe R, Ramos NJ, Castro AJ, Gordillo G. Actividad Antioxidante y Antienzimática in vitro y Antiinflamatoria in vivo del extracto Hidroalcohólico de *Caesalpinia spinosa* “TARA”. *Cienc E Investig.* 2 de agosto de 2017;19(1):35-42. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/9865/49e4f7b0133e2bc5809dfe9968471280be79.pdf>
48. Bohórquez Fajardo R. Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostegium phylloides* (Kunth) Wedd. 2016. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/591>
49. Alarcón Zavaleta TM. Actividad antioxidante y biológica de extractos de maíz azul (*Zea mays* L.). Universidad Veracruzana. Instituto de Ciencias Básicas. Región Xalapa.; 2011. Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/>

50. DIGESA, Norma Sanitaria sobre Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano, Cusco-Perú, 1999. Disponible en: http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf
51. Colivet J, Marcano G, Belloso G, Brito D, Gómez E. Antimicrobial effect of ethanolic extracts from basil (*Ocimum basilicum* L.) on growth of *Staphylococcus aureus*. *Rev Venez Cienc Technol Aliment*. 1 de enero de 2011; 2:313-20. Disponible en: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20123033053>
52. R MB, Guzmán M. El Antibiograma de discos. Normalización de la técnica de Kirby-bauer. *Biomédica*. 1984;4(3-4):112-21. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/1891>
53. Rojas et al. Evaluacion de dos metodologías para determinar la actividad antibacteriana.pdf. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85640204.pdf>
54. Stubsgarrd, F. (1997). Humedad de semillas y principio de secado. Danida Forest Seed Centre. Lecture Note C-5. CATIE. Serie Tecnica. Manual Tecnico, 2(24), 1-37. Disponible en: https://curis.ku.dk/ws/files/20661341/ln_c5.pdf
55. Salvat A. Actividad antifúngica de especies del género *Senna* (Caesalpinoideae, Leguminosae) del norte de Argentina frente a *Fusarium verticillioides*. *Rev Investig Agropecu*. 2018;44(1):11. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6480555>
56. Gonzales Díaz NA, Silva Villacréz J. Actividad Cicatrizante de una crema a base del Extracto Etanólico de las Hojas de *Senna Alata* L. (retama tropical) en ratones albinos. Univ Priv Huancayo Frankl Roosevelt 3 de abril de 2021. Disponible en: <http://repositorio.uoosevelt.edu.pe/handle/20.500.14140/356>
57. Oladeji OS, Adelowo FE, Oluyori AP. The genus *Senna* (Fabaceae): A review on its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology. *South Afr J Bot*. 1 de mayo de 2021; 138:1-32. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0254629920311698>
58. Gutiérrez Pulido, Humberto, et al. Control estadístico de calidad y seis sigmas/Humberto Gutiérrez pulido, coautor Román de la Vara Salazar. 2012.

Disponible en: <https://bibliotecadigital.uce.edu.ec/s/L-D/item/723#?c=&m=&s=&cv=>

59. Rojas N, Elizabeth M. Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos alcohólicos del fruto de mora (*Rubus glaucus* Benth) obtenidos con tres pretratamientos térmicos. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16411>
60. Picazo - Procedimientos en Microbiología Clínica.pdf . Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>
61. Toda M, Okubo S, Hara Y, Shimamura T. [Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*]. Nihon Saikingaku Zasshi. 1994 Sep;46(5):839-45. Japanese. doi: 10.3412/jsb.46.839. PMID: 1762174. Disponible en: https://www.istage.ist.go.jp/article/jsb1944/46/5/46_5_839/article/-char/ja/
62. Makinde, AA, Igoli, JO, Ta'Ama, L., Shaibu, SJ y Garba, A. (2007). Actividad antimicrobiana de *Senna alata*. Revista africana de biotecnología , 6 (13). Disponible en: <https://www.scielo.br/j/cagro/a/5kqBXvdSyyZMmf9pciwCh8h/?lang=pt>

ANEXOS

ANEXO N°1: Certificado de identificación botánica de la especie vegetal en estudio

	UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO	
<ul style="list-style-type: none">• APARTADO POSTAL N° 921 - Cusco - Perú• FAX: 238156 - 238173 - 222512• RECTORADO Calle Tigre N° 127 Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398	<ul style="list-style-type: none">• CIUDAD UNIVERSITARIA Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232370 - 232375 - 232226• CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210 243835 - 243836 - 243837 - 243838• LOCAL CENTRAL Plaza de Armas s/a Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015	<ul style="list-style-type: none">• MUSEO INKA Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380• CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 271145 - 271246• COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA" Av. De la Cultura N° 721 "Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

HERBARIO VARGAS CUZ

CERTIFICADO DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA N° 19-2023-HVC-FCB- UNSAAC

La Directora del Herbario Vargas CUZ, Facultad de Ciencias Biológicas, de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), deja constancia que: **Jeffrey Jonathan Huamán Rimachi**, Bachiller de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNSAAC, ha presentado a la Dirección del Herbario Vargas CUZ, una (01) muestra botánica para su determinación taxonómica (expediente N° 523972), para realizar el proyecto de investigación, "**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE SENNA BIROSTRIS "Mutuy" FRENTE A *Staphylococcus aureus*.**", la que al ser diagnosticada por el Mgt. Abel Monteagudo Mendoza, utilizando claves dicotómicas, consulta con bibliografía especializada, y comparación con muestras del herbario, concuerdan con las siguientes especies; de acuerdo a la clasificación del Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group-APG IV, 2016).

N°	FAMILIA	ESPECIE	NOMBRE COMUN
1	Fabaceae	<i>Senna birostris</i> (Dombey ex Vogel) H.S. Irwin & Barneby	"mutuy"

Se le expide la presente certificación a petición formal del interesado para los fines que viera por conveniente.


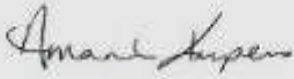


Cusco, 13 de abril de 2023


Blga. María Luisa Ochoa Cámara
Directora del Herbario Vargas CUZ



Fuente: Herbario Vargas CUZ de la Universidad Nacional de San Antonio Abad Del Cusco

ANEXO N°2: Certificado de autenticidad de la cepa de ATCC 25923 DE *Staphylococcus aureus*

	
Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release	
Specifications Microorganism Name: Staphylococcus aureus subsp. aureus Catalog Number: 0360 Lot Number: 360-250 Reference Number: ATCC® 25923™ Purity: < 0.1% Total Pellet CFU Recovery: > 1000 CFUs per Pellet Passage from Reference: 4	Expiration Date: 2017/11/30 Release Information: Quality Control Technologist: Carol J Stanoch Release Date: 2015/12/10
Performance	
Macroscopic Features: Medium to large, convex, entire edge, both white and pale white colonies, smooth, opaque, beta hemolytic Microscopic Features: Gram positive cocci occurring singly, in pairs and in irregular clusters	Medium: SBAP Method: Gram Stain (1)
ID System: Vitek GP (1) See attached ID System results document.	Other Features: Challenges: Results (1) Catalase (3% Hydrogen Peroxide): positive (1) Coagulase (rabbit plasma - tube): positive (1) Beta Lactamase (Cefinase Disk): negative (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 27 - 35 mm (1) Penicillin (10 units - Disk Susceptibility): 26 - 37 mm (1) Oxacillin (1 mcg - Disk Susceptibility): 18 - 24 mm  Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small>	
<small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small>	
<small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard safety information.</small>	
<small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small>	
	<small>(1) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC coding marks are trademarks of ATCC, Manotlogica, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small>
 <small>TESTING CLINT #2635.01</small>	<small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small>

Fuente : Microbiologics – Genlab del Perú

ANEXO N°3: Certificado de análisis del ácido ascórbico



Certificate of Analysis

1.00468.0100 L(+)-Ascorbic Acid for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur
Batch K48743968



	Spec. Values		Batch Values	
Assay (iodometric)	99.7 - 100.5	%	99.9	%
Identity (IR-spectrum)	conforms		conforms	
Appearance	white or almost white, crystalline powder		white or almost white, crystalline powder	
Appearance of solution (50 g/l CO ₂ -free water)	clear (< 3 NTU) and not so intense in colour than reference solution BY.		clear (< 3 NTU) and not so intense in colour than reference solution BY.	
pH (50 g/l CO ₂ -free water)	2.1 - 2.8		2.3	
Spec. rotation [α] _D ²⁰ (100 g/l, water)	+20.5 - +21.5	°	+20.9	°
Chloride (Cl ⁻)	≤ 50	ppm	≤ 50	ppm
Sulphate (SO ₄ ²⁻)	≤ 20	ppm	≤ 20	ppm
Cu (Copper)	≤ 5	ppm	≤ 5	ppm
Fe (Iron)	≤ 2	ppm	≤ 2	ppm
Heavy metals (as Pb)	≤ 10	ppm	≤ 10	ppm
Oxalic acid	≤ 0.2	%	≤ 0.2	%
Related substances (HPLC) (Impurity C)	≤ 0.15	%	0.06	%
Related substances (HPLC) (Impurity D)	≤ 0.15	%	< 0.01	%
Related substances (HPLC) (unspecified impurities singly)	≤ 0.10	%	< 0.05	%
Related substances (HPLC) (sum of impurities (except impurity A and D))	≤ 0.2	%	< 0.1	%
Sulfated ash (800 °C)	≤ 0.05	%	≤ 0.05	%
Loss on Drying (105°C)	≤ 0.1	%	< 0.1	%

Date of release (DD.MM.YYYY) 15.02.2017
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.01.2019

Dr. Stefan Frey
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

ANEXO N°4: Certificado de análisis del DPPH



Calbiochem®		
Certificate of Analysis		
DPPH, Free Radical - CAS 1898-66-4 - Calbiochem		
Batch Number:	2803502	
Material Number:	300267-50MG	
Molecular Formula:	$C_{12}H_{12}N_5O_6$	
Molecular Weight:	394.3	
RTECS Number:	MW3250000	
CAS Number:	1898-66-4	
Quality Release Date: 17-AUG-2016		
Recommended Retest Date: 31-MAY-2018		
Analytical Data		
Test	Tolerance	Result
Solubility:		DMF (10 mg/ml) or EtOH (5 mg/ml)
Color:		Black
Form:		Solid
Purity by Elemental analysis:	≥90.0 %	93.5 %
Carbon:	50.00 % - 58.00 %	55.20 %
Nitrogen:	16.00 % - 19.00 %	16.60 %
Storage and Handling:	-20°C	
This lot conforms to specifications established by EMD Millipore Corporation for this product.		
	24 February 2017	
Quality Control / Assurance	Date	
<small>Prices and availability are subject to change. ©Copyright 2017 EMD Millipore Corporation, an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Each product is sold with a limited warranty, which is provided with each purchase. Each product is intended to be used for research purposes only. It is not to be used for drug or diagnostic purposes, nor is it intended for human use. EMD Millipore products may not be resold, modified for resale, or used to manufacture commercial products without written approval of EMD Millipore.</small>		
EMD Millipore Corporation 28820 Single Oak Dr., Temecula, CA 92590		
Technical Support NA +1-800-321-1975 email: www.millipore.com/techservices www.calbiochem.com		
Technical Support All Other Countries - Contact Your Local Office		
FOR RESEARCH USE ONLY.		
<small>Not for use in diagnostic procedures. Not for human or animal consumption. Purchase of this product does not include any right to resale or transfer, either as a stand-alone product or as a component of another product. Any use of this Product for purpose other than research is strictly prohibited.</small>		
<small>Calbiochem and all other trademarks, unless specifically identified as belonging to a third party, are owned by Merck KGaA, Darmstadt, Germany.</small>		

ANEXO N°5: Ficha de recolección de la especie vegetal

Especie vegetal: <i>Senna birostris</i> (Mutuy)	
Fecha:/...../.....	
Hora:/...../.....	
Características:	Detalles
Nombre científico:	<i>Senna birostris</i>
Nombre común:	Mutuy
Familia:	Fabaceae
Especie:	<i>Senna birostris</i>
Lugar de recolección de la planta:	- Región: Cusco - Provincia: Cusco - Distrito: Cusco
Partes usadas de la planta:	- Tallo () - Hojas () - Flores (x) - Raíz ()
Recolector:	Br. Jeffrey Jonathan Huaman Rimachi
Observaciones:	

Fuente: Elaboración propia - Huaman Rimachi J.J,2023

ANEXO N°6: Determinación de la prueba Solubilidad y Análisis Fitoquímico Cualitativo

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO																					
FACULTAD DE CIENCIAS																					
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855																					
RESULTADOS																					
Cusco 24 de Agosto 2023																					
Solicitante	: Jeffrey Jonathan Huaman Rimachi																				
Tipo de Análisis	: Marcha fitoquímica cualitativa y solubilidad																				
Método	: Reacciones a la gota y solubilidad en diferentes solventes																				
Tipo de Muestras	: Extracto Glicólico de flores de "Mutuy" <i>Senna birostris</i>																				
Cantidad de Muestra	: 1 Frasco con 10ml aproximadamente																				
Almacenamiento	: 4 °C.																				
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Ensayo</th> <th>Extracto Glicólico de flores de "Mutuy" <i>Senna birostris</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Compuestos Fenólicos</td> <td>++</td> </tr> <tr> <td>Flavonoides</td> <td>++</td> </tr> <tr> <td>Alcaloides</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Triterpenos y Esteroides</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Saponinas</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>Taninos</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>Quinonas</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table> <p>Abundante = +++, Poco = ++, Muy Poco = +, Ausente = -</p>		Ensayo	Extracto Glicólico de flores de "Mutuy" <i>Senna birostris</i>	Compuestos Fenólicos	++	Flavonoides	++	Alcaloides	-	Triterpenos y Esteroides	+	Saponinas	+	Taninos	-	Quinonas	-				
Ensayo	Extracto Glicólico de flores de "Mutuy" <i>Senna birostris</i>																				
Compuestos Fenólicos	++																				
Flavonoides	++																				
Alcaloides	-																				
Triterpenos y Esteroides	+																				
Saponinas	+																				
Taninos	-																				
Quinonas	-																				
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Extracto Glicólico flores Mutuy</th> <th>Agua</th> <th>Metanol</th> <th>Etanol Abs</th> <th>Etanol 96</th> <th>Etanol 70</th> <th>Acetona</th> <th>Acetato de Etilo</th> <th>Cloroformo</th> <th>Hexano</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Solubilidad</td> <td>+++</td> <td>++</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>+++</td> <td>-</td> <td>+</td> <td>+</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table> <p>Muy Soluble = +++, Parcialmente Soluble = ++, Poco Soluble = +, Insoluble = -</p>		Extracto Glicólico flores Mutuy	Agua	Metanol	Etanol Abs	Etanol 96	Etanol 70	Acetona	Acetato de Etilo	Cloroformo	Hexano	Solubilidad	+++	++	+	+	+++	-	+	+	-
Extracto Glicólico flores Mutuy	Agua	Metanol	Etanol Abs	Etanol 96	Etanol 70	Acetona	Acetato de Etilo	Cloroformo	Hexano												
Solubilidad	+++	++	+	+	+++	-	+	+	-												
<p>Nota: El ensayo fitoquímico realizado al extracto consistió en reacciones de coloración y/o precipitación, en el que se evaluó la presencia o ausencia de metabolitos secundarios</p>																					
<p>Referencia</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lock de Ugaz O. 1994. "Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio en los productos naturales" Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima. 																					
  Químico Jorge Chequenaira Parí Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría - UNSAAC. CQP - 914																					

ANEXO N°7: Determinación Fitoquímica Cualitativa de metabolitos secundarios de la especie vegetal en estudio

METABOLITO	PROCEDIMIENTO	RESULTADO
Compuestos Fenólicos	Tomar 1mL de extracto y agregar 1 a 2 gotas de cloruro férrico al 1%.	Indica prueba positiva la coloración azulada o verdosa a presencia de precipitado.
Flavonoides	Reacción de Shinoda: A 1mL de extracto añadir algunas limaduras de magnesio metálico más 2 a 3 gotas de HCL concentrado.	Coloración rojiza que tiende al amarillo o azul indican prueba positiva.
Alcaloides	Reacción de Dragendorff: A 1mL de la muestra agregar 2 a 3 gotas del reactivo de Dragendorff.	La formación de un precipitado naranja o marrón indica la presencia de alcaloides.
Triterpenos y Esteroides	La reacción de Liberman – Burchard. A 1ml de la muestra agrega 2 a 3 gotas de ácido acético, agregar 2ml de la mezcla de anhido acético – ácido sulfúrico.	Coloración rosada o purpura muy rápido y verde intenso – visible, aunque muy rápido, verde oscuro indican prueba positiva.
Saponinas	Aproximadamente 1ml del extracto se solubiliza en 5 mL de agua o en 5 mL de etanol al 40%, filtrar si es necesario, el filtrado agitar vigorosamente por 30 segundos.	La formación de espuma persiste por 30 minutos, indica la presencia de saponinas.
Taninos	A 1mL de extracto adicionar 2-3 gotas de cloruro férrico al 1%.	La aparición de coloración o formación de precipitado indica que la prueba es positiva. La coloración azul oscuro indica la presencia de taninos gálico y una coloración verde la presencia de taninos catéquicos.
Quinonas	Reacciones de Bomtrager: A 1mL del extracto agregar 0.5mL de hidróxido de potasio al 0.5%, calentar, filtrar si es necesario, enfriar y acidular luego extraer con benceno separada, agregar 0.5mL de hidróxido de amonio.	La coloración roja en la fase amoniaco indica la presencia de naftoquinona y antraquinonas.

Fuente: Lock Sing de Ugaz O, Ciencias PUC del PD de. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. Pontificia Universidad Católica del Perú. Departamento de Ciencias; 1994.(46)

ANEXO N°8: Determinación del Valor de Concentración 50 (IC50)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
 FACULTAD DE CIENCIAS
 LABORATORIO DE CROMATOGRÁFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de
 CalidadAV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco, 07 de Septiembre del 2023

Solicitante : Jeffrey Jonathan Huaman Rimachi
 Tipo de Análisis : Determinación Capacidad
 AntioxidanteMétodo : DPPH Colorimetrico
 Tipo de Muestras : Extracto Glicolico de flores de" Mutuy" *Senna birostris*
 Cantidad de Muestra : 1 Frasco con 10ml aproximadamente
 Almacenamiento : 4 °C.

Condiciones de Análisis por Espectrofotómetro

Equipo : Espectrofotómetro Génesis 20 Thermo Electrón
 Longitud de Onda : 517 nm
 Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm
 Ecuación de la curva patrón : $y = 9.2578x + 0.487$, $R^2 = 0.9985$
 Estándar : Acido Ascórbico

Muestra	Repeticiones					Promedio
	1	2	3	4	5	Equivalentes Ácido Ascórbico CI50 µg/mL
Extracto glicólico flores	5.3464	5.3475	5.3481	5.3480	5.350	5.35

" Mutuy" *Senna birostris*

Nota:

Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante expresan el Coeficiente de Inhibición al 50% (CI₅₀ o IC₅₀) en microgramos equivalentes Ácido Ascórbico que están presente en 1ml de muestra.

Referencia consultada

1. Brand-Williams W., M. Cuvelier and C. Berset; (1997) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 28, 25-30.
2. Norul Liza A-Rahaman, Lee Suan Chua, Mohamad Roji Sarmidi, Ramlan Aziz (2013)Physicochemical and radical scavenging activities of honey samples from Malaysia *Agricultural Sciences* Vol.4, No.5B, 46-51.
3. Molyneux Philip 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2) : 211-219.
4. Pugliese A.G, Francisco A. Tomas-Barberan, Pilar Truchado, Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of *Theobroma grandiflorum* (Cupuassu) Pulp and Seeds *J Agric Food Chem.* 2013 Mar 20;61(11):2720-8. doi: 10.1021/jf304349u.



[Firma manuscrita]

Químico. Jorge Chequenaira Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y
 Espectrometría – UNSAAC.
 CQP - 914

ANEXO N°9: Control Microbiológico del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA "SISLAB"
"Discreción Eficiencia e Investigación"

Cusco 06 de octubre del 2023

CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (Mutuy)

Solicitante:

- Bach. Jeffrey Jonathan Huaman Rimachi

Para la tesis de Investigación intitulada "ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIBACTERIANA IN VITRO DEL EXTRACTO GLICÓLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (Mutuy) FRENTE A CEPA ATCC DE *Staphylococcus aureus* DEL LOTE 360-170-1"

Muestra: *Senna birostris* (Mutuy)

Lugar y fecha: Cusco 06 de octubre del 2023

Indicadores microbiológicos:

- Criterio imperativo:** Presencia de *Salmonella* spp (Agar SS)
- Criterio indicativo de higiene:** Número de coliformes fecales – *Escherichia coli* (Caldo lactosado verde brillante bilis 2%)
- Criterio de alerta o límites críticos:**
 - Recuento de microorganismos Aerobios Mesofilos Viables (Agar Plate Count).
 - Recuento de hongos y levaduras (Agar Sabouraud)

Reporte de resultados del control microbiológico del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

CRITERIOS	RESULTADOS EN LA DILUCIÓN 10 ⁻¹	LIMITES MICROBIOLÓGICOS PERMISIBLES (LMP)	OBSERVACIONES
Criterio imperativo	Ausencia de <i>Salmonella</i> spp	Ausencia de <i>Salmonella</i> spp	Las muestras cumplen los LMP
Criterios indicativos de higiene	Número de coliformes fecales - <i>Escherichia coli</i> : Ausencia	<i>Escherichia coli</i> : Ausencia	Las muestras cumplen los LMP
Criterio de alerta o límites críticos	Recuento de microorganismos Aerobios Mesofilos viables: < 10 ⁻² UFC	10 ⁻¹ - 10 ⁻¹ UFC	Las muestras cumplen los LMP
	Recuento de hongos y levaduras 10 ⁻² UFC	10 ⁻² - 10 ⁻³ UFC	Las muestras cumplen los LMP


El método es el de la IMCSF (Comisión Internacional en Especificaciones Microbiológicas para Alimentos) laboratorio General de Calidad de Agua Ministerio de Salud.

Conclusión: La muestra cumple con los criterios de los límites microbiológicos permisibles.


DIRECCIÓN POSTAL Av. la Cultura N° 1400 Of 102 Wanchaq CUSCO
TELÉFONOS : TEL 084 265241 RPC 942 727417, 944 214527 , Correo Electrónico: sislab@gmail.com
Lic. Saucedo Ramos Francisco
Tecnólogo Médico
Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica
C.T.M.P-12802

ANEXO N°10: Instrucciones para la activación de la Cepa ATCC – Kwik-Stik

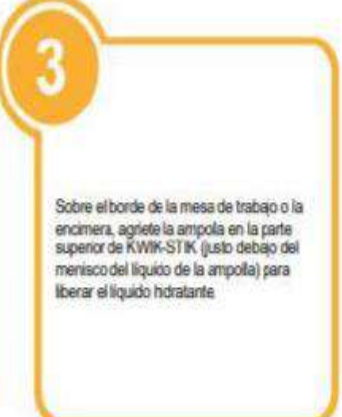
INSTRUCCIONES CON ILUSTRACIONES

- 


1

Deje que la bolsa de KWIK-STIK sin abrir se adapte a la temperatura ambiente. Abra la bolsa rasgando a la altura de la muesca y quite la unidad de KWIK-STIK.
- 


2

Retire la porción de la etiqueta de tirar y rasgar y colóquese a la placa de cultivo principal o al registro de CC. No desarme el dispositivo durante la hidratación.
- 


3

Sobre el borde de la mesa de trabajo o la encimera, agriete la ampolla en la parte superior de KWIK-STIK (justo debajo del menisco del líquido de la ampolla) para liberar el líquido hidratante.
- 


4

Manténgalo vertical y golpee suavemente sobre una superficie dura para facilitar el flujo del líquido por el mango hasta la parte inferior de la unidad que contiene el gránulo.
- 


5

Apriete la parte inferior de la unidad para que el gránulo se disuelva en el líquido hasta lograr una suspensión homogénea.
- 


6

De inmediato, sature el hisopo abundantemente con el material hidratado y transféralo al medio con agar correspondiente o utilícelo según el procedimiento operativo estándar del laboratorio.
- 

7



Inocule la placa de cultivo principal girando con suavidad el hisopo sobre un tercio de la placa.
- 

8

Por medio de un asa esterilizada, haga estrías para facilitar el aislamiento de la colonia.
- 

9

Descarte el KWIK-STIK de foma apropiada para desechos de riesgo biológico.


- 

10

De inmediato, incube la(s) placa(s) invertida(s) de cultivo principal inoculada(s) a temperatura y en condiciones apropiadas para el microorganismo.

Para ver el método de cultivo ingrese a la página del producto en www.microbiologics.com.

Fuente: Microbiologics – Genlab del Perú

ANEXO N°11: Ficha de recolección para la evaluación de la actividad antibacteriana del extracto glicólico de *Senna birostris* (Mutuy)

HALOS DE INHIBICIÓN (mm) DEL EXTRACTO GLICOLICO DE LAS FLORES DE *Senna birostris* (Mutuy) FRENTE A *Staphylococcus aureus*.

Fecha:/...../.....

Hora:/...../.....

N°	Concentración del extracto $\mu\text{g/mL}$	Extracto glicólico de las flores de <i>Senna birostris</i> (Mutuy)			
		IG	IIG	IIIG	PROMEDIO
1					
2					
3					
4					
Fármaco Patrón	Eritromicina 15μg/25μl				

ANEXO N°12: Criterio de actividad antibacteriana atendiendo al halo de inhibición para definir el tipo de actividad antibacteriana, se utilizaron criterios expuestos por Toda y Col. (1994)

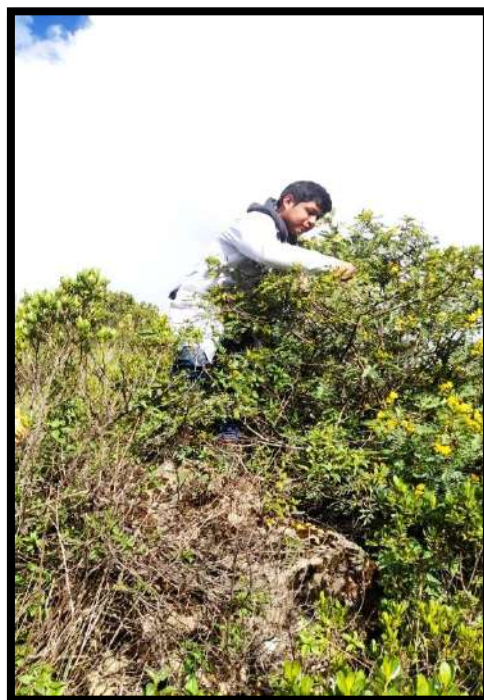
ACTIVIDAD	HALO DE INHIBITION
Marcada	> 16
Moderada	$16 < \text{halo} < 12$
Ligera	$12 < \text{halo} < 8$
No actividad	< 8

Donde:

- **Halo de inhibición > 16 :** Significa una actividad antibacteriana marcada.
- **Halo de inhibición $16 < \text{halo} < 12$:** Significa una actividad antibacteriana moderada.
- **Halo de inhibición $12 < \text{halo} < 8$:** Significa una actividad antibacteriana ligera.
- **Halo de inhibición < 8 :** Significa ausencia de actividad antibacteriana.

Fuente: Toda M, Okubo S, Hara Y, Shimamura T. [Antibacterial and bactericidal activities of tea extracts and catechins against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*]. *Nihon Saikingaku Zasshi*. 1994 Sep;46(5):839-45. Japanese. doi: 10.3412/jsb.46.839. PMID: 1762174.(61)

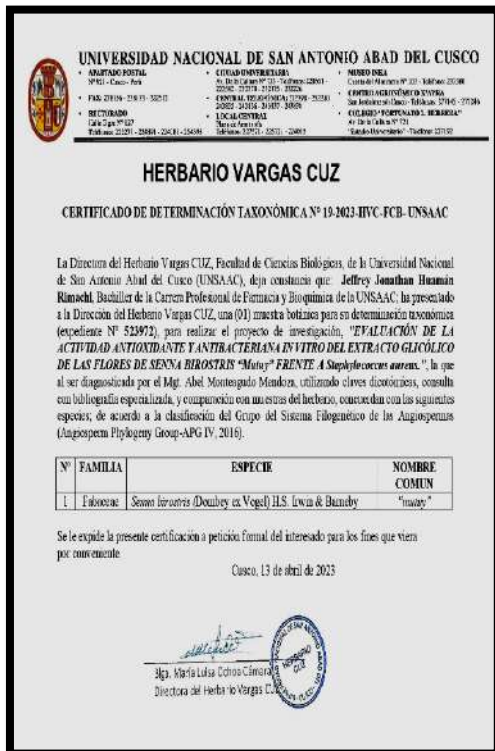
ANEXO N° 13: Registro fotográfico



Fotografía N°1: Recolección de las flores de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy)



Fotografía N°2: Selección y secado de las flores de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy)



Fotografía N°3: Identificación de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy) – Herbario Vargas Cuz

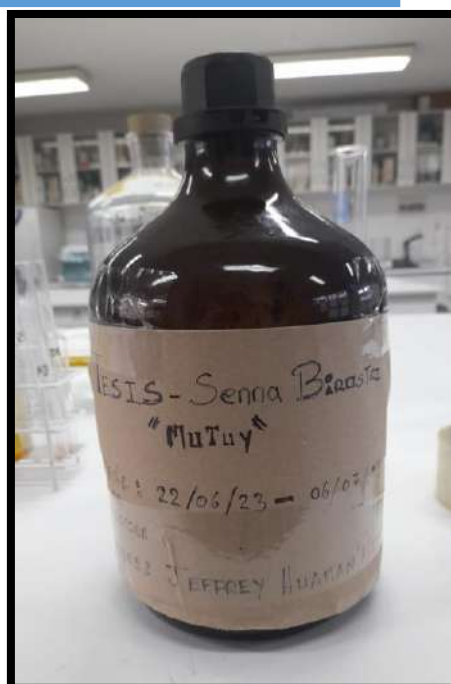


Fotografía N°4: Molienda de las flores de la especie vegetal *Senna birostris* (Mutuy)



Fotografía N°5: Conservamos en un frasco de color caramelo y añadiremos propilénglico y agua destilada

Fotografía N°6: Obtención del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



Pesado de las flores molidas de *Senna birostris*

Maceración: Propiléngicol y agua destilada



Filtración de la muestra del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

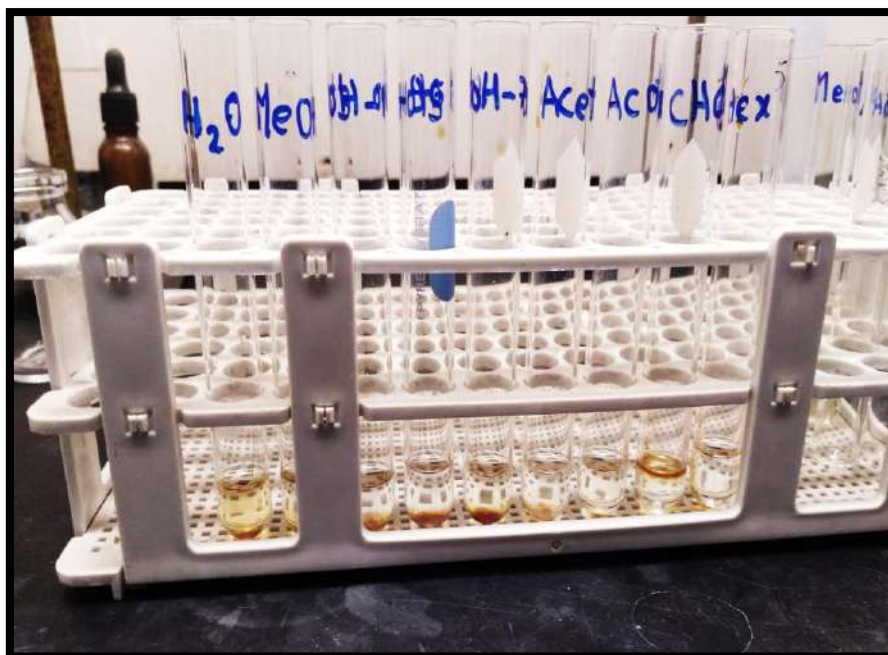
Evaporación a baño maría a 45°C



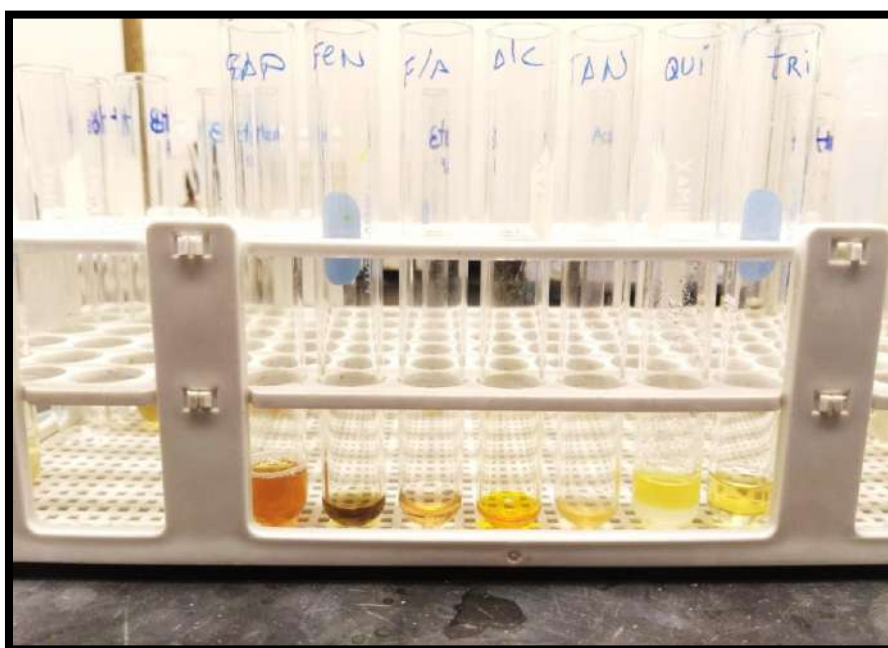
Fotografía N°7: Determinación del porcentaje de humedad de las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



Fotografía N°8: Determinación del porcentaje de rendimiento del extracto glicólico las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

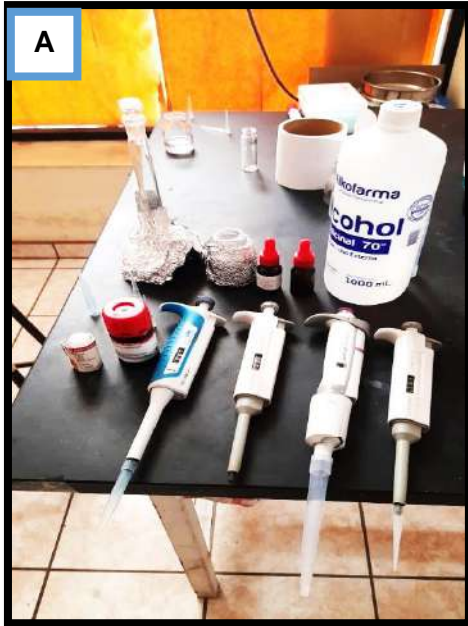


Fotografía N°9: Prueba de solubilidad del extracto glicólico las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

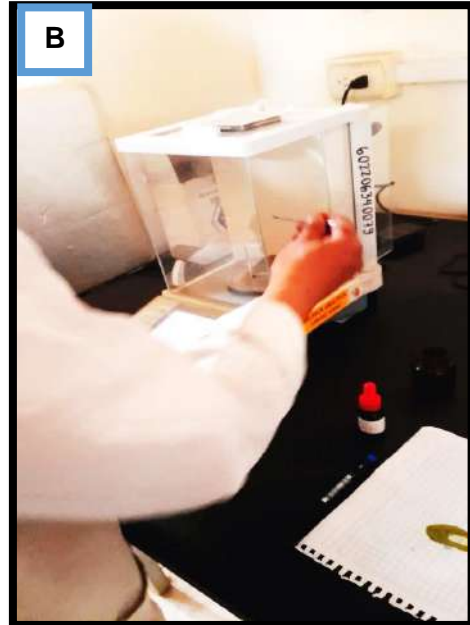


Fotografía N°10: Análisis fitoquímico cualitativo del extracto glicólico las flores de *Senna birostris* (Mutuy)

Fotografía N°11: Determinación de la actividad antioxidante del extracto glicólico las flores de *Senna birostris* (Mutuy)



Materiales para determinar la actividad antioxidante



Pesar el reactivo de DPPH y ácido ascórbico



Preparar los tubos de ensayo y rotulado



Medir la Absorbancia a 517nm en el espectrofotómetro UV- visible

Fotografía N°12: Tubos con diferentes concentraciones del patrón ácido ascórbico y del extracto glicólico las flores de *Senna birostris* (Mutuy) + DPPH después de 30 minutos en oscuridad para luego ser leídos en el espectrofotómetro a 517 nm



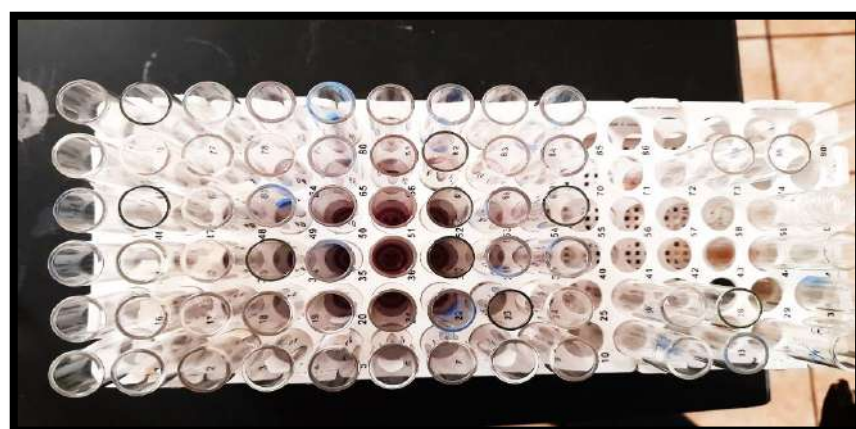
A

Concentraciones del patrón ácido ascórbico + el reactivo DPPH



B

Concentraciones del extracto glicólico las flores de *Senna birostris* (Mutuy) + el reactivo DPPH



Fotografía N°13: Reactivación de la cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Reactivar en Agar basa sangre



Fotografía N°14: Conservación de la cepa ATCC 25923 *Staphylococcus aureus* en caldo BHI



Fotografía N°15: Preparación de las placas Petri



Preparar con Agar basa sangre y realizar el sembrado en las placas Petri



Preparar con Agar Muller Hinton y realizar el sembrado en las placas Petri



Realizar los pozos excavados e inocular con una micro pipeta en cada pozo excavado

Fotografía N°16: Halos de inhibición con las respectivas concentraciones del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) y el fármaco patrón eritromicina.



Medir los halos de inhibición con un Vernier



Halos de inhibición del extracto glicólico de las flores de *Senna birostris* (Mutuy) a concentraciones de 25%, 50%, 75% y 100%



Halos de inhibición del fármaco patrón Eritromicina